

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

UNIDAD DE POSTGRADO

**Toxoplasmosis como agente causal de abortos en
alpacas**

TESIS

para optar el grado académico de Magíster en salud animal

AUTOR

Nicasio Valencia Mamani

Lima – Perú

2006

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre Manuel
Valencia Ingaluque, por su constante
esfuerzo y estímulo, como testimonio
de profunda y afectuosa gratitud.

A mi madre por todo su amor, sacrificio y
ejemplo de fortaleza, apoyo constante en
todos los momentos de mi vida.

A mis engréidos Mary, Nicolay y Jhon
Cesar, porque siempre tienen una
sonrisa para mí.

A mis hermanos por su apoyo
incondicional, confianza y cariño.

Mis sinceros agradecimientos a la Dra.
Amanda Chávez, por su apoyo,
constancia y paciencia en la realización
del presente trabajo.

A la Dra. Eva Casas y Dr. Enrique
Serrano por sus consejos y apoyo en la
realización del presente trabajo.

A los Sres. Asesores y miembros del
jurado calificador, por el apoyo en la
realización de esta tesis.

CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	i
LISTA DE CUADRO	iii
LISTA DE ANEXO	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
SUMMARY	vii
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. Etiología	3
2. Evolución histórica	3
3. Clasificación taxonómica	5
4. Estadios de desarrollo	6
5. Ciclo biológico	7
6. Epidemiología	10
6.1. Del parásito	10
6.2. Del hospedero	11
6.3. Del medio ambiente	12
7. Importancia de la toxoplasmosis	13
7.1. Importancia Económica	13
7.2. Importancia en Salud Pública	14
8. Patogenia	15
9. Inmunidad	18
9.1. Respuesta celular	18
9.2. Respuesta Humoral	20
10. Cuadro clínico	20
10.1. En ovinos	20
10.2. En porcinos	22
10.3. En vacunos	23
10.4. En equinos	24
10.5. En perros	24
10.6. En gatos	25
10.7. En aves	26
10.8. En el hombre	27
11. Diagnostico	30
11.1. Anamnesis y Diagnostico Epidemiológico	30
11.2. Diagnostico Clínico y Lesiones	30
11.3. Diagnostico de laboratorio	31
11.3.1. Pruebas no serológicas	31
11.3.1.1. Aislamiento de parásito	31
11.3.1.2. Examen de Histología convencional	31
11.3.1.3. Técnica de inmunohistoquímica	32
11.3.1.4. Téc. de detección de ácidos nucleicos	32
11.3.1.5. Inmunoblot	33
11.3.1.6. Prueba de intradermo reacción	33
11.3.2. Pruebas serológicas	33

11.3.2.1.	Prueba de Sabin Feldman	34
11.3.2.2.	P. de inmunofluorescencia Indirecta	34
11.3.2.3.	Prueba de Aglutinación de Látex	34
11.3.2.4.	Prueba de ELISA	35
11.3.2.5.	Prueba de Hemoaglutinación Indirecta	35
11.3.2.6.	Prueba de Fijación del Complemento	35
11.3.2.7.	Prueba de Aglutinación Modificada	36
12.	Tratamiento y profilaxis	36
12.1.	Tratamiento	36
12.2.	Profilaxis	37
12.2.1.	Medidas higiénico sanitario	37
12.2.2.	Inmunoprofilaxis	38
III.	MATERIAL Y METODOS	39
1.	Características de la zona de estudio.	39
1.1.	Área de estudio.	39
1.2.	Ubicación geográfica.	40
1.3.	Clima.	40
2.	Animales del experimento	41
2.1.	Población pecuaria	41
2.2.	Población de estudio	41
3.	Procedimiento experimental.	42
3.1.	Toma de muestra.	42
3.2.	Material de laboratorio.	43
4.	Métodos.	43
4.1.	Técnica de la Hemoaglutinación Indirecta (HAI).	43
5.	Población	44
6.	Indicadores epidemiológicos.	45
6.1.	Prevalencia	45
6.2.	Incidencia.	45
6.3.	Tasa de Fertilidad	46
6.4.	Tasa de aborto.	46
6.5.	Tasa de mortalidad perinatal	47
7.	Análisis estadístico	47
7.1.	Chi cuadrado	47
7.2.	Prueba Exacta de Fisher.	48
7.3.	Ecuación de Estimación Generalizada	48
IV.	RESULTADOS	49
V.	DISCUSIÓN	54
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
VII.	BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	69
	ANEXO	85

TABLA DE CONTENIDOS

LISTA DE CUADROS

	Pág.
CUADRO 1. Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas hembras del CIPCS – Lachocc. U.N. de Huancavelica 1999.	50
CUADRO 2. Incidencia de <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas hembras del CIPCS – Lachocc. U.N. de Huancavelica.	51
CUADRO 3. Infección por <i>Toxoplasma gondii</i> y estado reproductivo en alpacas hembras del CPICS – Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.	51
CUADRO 4. Infección por <i>Toxoplasma gondii</i> y abortos en alpacas hembras del CPICS - Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.	52
CUADRO 5. Infección por <i>Toxoplasma gondii</i> y Mortalidad Perinatal en alpacas hembras del CPICS – Lachocc, U.N. de Huancavelica – 2000.	52
CUADRO 6. Parámetros estimados del modelo de ecuación de Estimación Generalizada en cohorte de alpacas hembras del CIDCS – Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999 – 2000	53

LISTA DE ANEXO

	Pág.
Anexo 1. Manifestaciones reproductivas en alpacas hembras por trimestre durante una campaña reproductiva al examen de hemoaglutinación indirecta (HAI)	86
Anexo 2. Titulación de anticuerpos anti- <i>T. gondii</i> en alpacas hembras durante la campaña reproductiva 1999-2000 del CPICS – Lachocc, U.N. Huancavelica.	87
Anexo 3. Titulación de anticuerpos anti- <i>T. gondii</i> en alpacas hembras según situación reproductiva, campaña 1999-2000 del CPICS – Lachocc, U.N. Huancavelica	87
Anexo 4. Frecuencia de <i>Toxoplasma gondii</i> según edad, en alpacas hembras del CPICS – Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.	88
Anexo 5. Seroprevalencia de la infección por <i>Toxoplasma gondii</i> en el ganado ovino en varios países.	88

Anexo 6. Seroprevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en camélidos sudamericanos.

89

Anexo 7. Parámetros estimados del modelo de Ecuación de Estimación Generalizada – GEE mediante el paquete estadístico STATA 2001.

90

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Ubicación geográfica de la Región de Huancavelica en el Perú	91

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivos: determinar la asociación de *T. gondii* con abortos en el primer, segundo y tercer trimestre de gestación; así como la asociación de *T. gondii* con mortalidad perinatal. Se realizó un estudio prospectivo de 108 alpacas hembras del Centro de Investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos - Lachocc de la Universidad Nacional de Huancavelica, localizado a una altura promedio de 4,450 m.s.n.m., durante una campaña reproductiva-enero de 1999 hasta marzo de 2000-a través del monitoreo de anticuerpos de *Toxoplasma gondii* mediante la Técnica de Hemoaglutinación Indirecta (HAI). De las 332 muestras de suero de alpacas hembras, inicialmente analizadas, se obtuvo una seroprevalencia de *T. gondii* de 36.45% (121/332) y con las 108 alpacas hembras seronegativas se siguió su seroconversión durante toda la campaña reproductiva; obteniéndose una incidencia acumulada de *T. gondii* de 25.00% (27/108) a los 270 días después del empadre. La tasa de fertilidad total fue 70.37% (76/108); y de ella, estuvieron infectadas por *T. gondii* el 27.63% (21/76) mientras que el 72.36% (55/76) no presentaron seroconversión. A la prueba de X^2 , no existió diferencia significativa ($p>0.05$), estimando que la fertilidad fue independiente de la infección por *T. gondii*. Las tasas de aborto para los periodos de 90 a 180 y 181 a 270 y 271 a 330 días, fueron de 9.52% (2/21), 15.79% (3/19) y 12.50% (2/16) para infectadas por *T. gondii*; mientras que las seronegativas fueron de 5.45% (3/55), 1.92% (1/52) y 5.88% (3/51). La mortalidad perinatal fue 21.43% (3/14) para las infectadas por *T. gondii* y 4.17% (2/48) en las no infectadas. A la Prueba Estadística de Fisher, no existió diferencia significativa ($p>0.05$); se

estima que el aborto y la mortalidad perinatal es independiente de la infección por *T. gondii*. Adicionalmente, se encontró que la primoinfección de *T. gondii* en alpacas hembras son independientes de la edad, a la prueba de X^2 no existió diferencia significativa ($p>0.05$) lo cual indica que las jóvenes y adultos son igualmente receptivas. Cuando se analizó la infección de *T. gondii* con relación a abortos, mediante el modelo de Ecuación de Estimación Generalizada (G.E.E.), no existió diferencia significativa ($p>0.05$), pero como factor de riesgo se estimó, la probabilidad de tener un aborto en el grupo de alpacas seropositivas es de 3.3 veces más que la probabilidad en una alpaca seronegativa a toxoplasmosis. Con este trabajo se comprueba la prevalencia relativamente elevado de *T. gondii* en alpacas preñadas.

SUMMARY

The objective of the present study was to determine the relationship between *T. gondii* with the occurrence of abortions en the first, second and third trimester of gestation, as well as the association with perinatal mortality. It was conducted a prospective study using 108 female alpacas at the Centro de Investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos-Lachocc, Universidad Nacional de Huancavelica, located at 4,450 m.a.s.l., from January 1999 till March 2000, through the monitoring of antibodies against *Toxoplasma gondii* using the Indirect Haemagglutination Test (IHA). The initial seroprevalence of *T. gondii* was 36.5% (121/332). The follow-up of the 108 seronegative animals to evaluate serconversion resulted in an accumulate incidence of 25% (27/108) at 270 days after breeding. Fertility rate was 70.4% (76/108), and among them, 27.6% (21/76) were infected by *T. gondii* whereas 72.4% did not seroconverted. There was no statistical differences ($p>0.05$) using the X^2 test, showing that fertility was independently of infection by *T. gondii*. Abortion rates for the periods 90-80, 181-270, and 271-330 days were 9.5% (2/21), 15.8% (3/19) and

12.5% (2/16). Perinatal mortality was 21.4% (3/14) for infected females and 4.2% (2/48) for non-infected ones. No significant differences ($p>0.05$) using the Fisher test showed that abortion and perinatal mortality were independently of infection by *T. gondii*. Additionally, prime infection by *T. gondii* in female alpaca is independent of age, as the X^2 test showed no statistical differences ($p>0.05$) between young and mature animals. The relationship between *T. gondii* infection and abortions, using the Generalized Estimation Equation did not showed statistical differences ($p>0.05$), however, the risk factor indicated that the probability to get an abortion among seropositive alpaca females was 3.3 higher than in seronegative ones.

Key words: Toxoplasma, camelids, fetuses, Huancavelica, lama.

I. INTRODUCCIÓN

En las alpacas, se ha identificado dos problemas; en reproducción y en salud animal. Así la baja tasa de natalidad del 50 % (Fernández Baca, 1971; Novoa, 1991) y las altas tasas de mortalidad que oscila entre 7.4 y 51.2 % (Ameguino *et al.*, 1991) llegando en algunos años entre 15 al 80 % (Melo, 1997), sobre todo en crías. A ello se suma que, la tasa reproductiva de estos animales es muy lenta; en efecto una hembra produce un promedio de cuatro crías durante toda su vida productiva (Velásquez y Novoa, 1999).

La salud animal y la reproducción constituyen, en el momento actual, dos pilares básicos en los que se asienta la producción de los rumiantes domésticos. El aborto es una de las formas clínicas en que puede finalizar cualquier enfermedad fetal y se define como la expulsión del feto muerto antes de cumplirse el periodo normal de gestación, en el caso de alpacas, antes de 10.5 meses de gestación (Ameguino y DeMartini, 1991).

La mortalidad en crías de alpacas no ha sido bien estudiado en nuestro medio; el cual constituye una seria limitación técnica y económica para los trabajos de selección por la pérdida de valioso potencial genético, los reemplazos, la saca o venta de animales y el retraso en el crecimiento de la población alpaca (Ameguino y DeMartini, 1991).

Los agentes abortivos en alpacas y ovinos pueden ocasionar muerte embrionaria, abortos, malformaciones congénitas, nacimientos de crías muertas y crías débiles que mueren dentro de pocas horas o días después del nacimiento (Leguía, 1990; Rosadio y Ameguino, 1999). Las alpacas raramente muestran signos clínicos antes de abortar, el ganadero simplemente encuentra un feto abortado en el campo de pastoreo o en su corral. Después del aborto, no hay retención de placenta, la alpaca se encuentra aparentemente saludable.

En el marco de la salud animal, una de las infecciones parasitarias zoonóticas de mayor difusión en la naturaleza, es la toxoplasmosis, que se

encuentra en todas las áreas zoogeográficas y es de importancia en salud pública y veterinaria (Tenter *et al.*, 2000; Acha y Szyfres, 1992), ya que afecta a diversas especies de mamíferos domésticos, silvestres y aves. Las infecciones de los animales son clínicamente inaparentes y las formas clínicas son variables y dependen del órgano o sistema donde se multiplica el parásito.

Dentro los protozoos, el *Toxoplasma gondii*, constituye una de las principales causas de infertilidad, expresados en mortalidad embrionaria temprana, abortos, mortalidad perinatal y mortalidad neonatal en ovinos, caprinos, porcinos, animales silvestres (Tenter *et al.*, 2000) y probablemente en camélidos sudamericanos (Ramírez *et al.*, 1998; Wolf, *et al.*, 2005).

En comunidades ganaderas, no se conocen exactamente las causas y los porcentajes de pérdidas embrionarias y abortos. En especial, los abortos en los camélidos sudamericanos. Estudios en ovinos realizados en España por Quintanilla (1999) manifiesta que, entre el 80-90 % de los diagnósticos etiológicos de mortalidad embrionaria y aborto en los rumiantes domésticos corresponden a causas infecciosas o parasitarias.

Por lo anteriormente señalado, los objetivos del estudio fueron: determinar la asociación de *T. gondii* con abortos al primer, segundo y tercer trimestre en alpacas; y determinar la asociación de *T. gondii* con mortalidad perinatal en alpacas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

1. ETIOLOGIA

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más difundidas en el mundo (Klun *et al.*, 2005). Es causado por el parásito *Toxoplasma gondii* (Dubey *et al.*, 1998), protozoo polixeno y heteroxeno facultativo, con capacidad de afectar a cualquier célula de los vertebrados exceptuando los glóbulos rojos, e incluso es capaz de albergarse en algunos invertebrados como la lombriz de tierra (Rojas, 2004).

2. EVOLUCIÓN HISTÓRICA.

A nivel mundial, se ha realizado numerosas investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis y su agente causal. En el presente informe se recoge trabajos realizados por destacados especialistas (Pantoja y Perez, 2001; Dubey, 1993; Tejada y Balvín, 1989).

1908: Se considera el año en que se produjo el descubrimiento del *Toxoplasma gondii*, hallado accidentalmente por Nicolle y Manceaux, cuando aislaron en el hígado y bazo del roedor salvaje africano *Ctenodactylus gundi*, que era investigado como posible reservorio del género *Leishmania*, por lo que, inicialmente, se le denominó *Leishmania gondii*. El comportamiento del parásito en los cultivos hizo que se le descartara como especie de *Leishmania* y, por su forma de arco (del griego toxon: arcos) y por el nombre vulgar del roedor en que fue hallado, el *gundii*, fue renombrado como *Toxoplasma gondii*.

1908: Splendore, en Brasil, lo encor³ el cerebro de conejos y lo consideró una variedad especial del género *Leishmania*.

1910: Mello, reportó el primer caso de toxoplasmosis canina, descubierto en Turín (Italia) en un perro aparentemente infectado de moquillo. Observó

anemia pronunciada, anorexia, debilidad extrema, diarrea y exudado sanguinolento.

1923: Janku, en Praga (Checoslovaquia), descubrió la coriorretinitis toxoplásmica en una paciente niña, recién nacida, afectada de meningoencefalitis aguda.

1940: Pinkerton y Weisnman, en el Perú, describieron el primer caso de toxoplasmosis humana adquirida en un paciente del Hospital dos de Mayo.

1942: Olafson y Monlux, describieron por primera vez la toxoplasmosis en los gatos (EE.UU.) y se refirieron a la transmisión por consumo de carne mal cocida.

1948. Sabin y Feldman, pusieron en marcha la primera técnica serológica de diagnóstica conocida como *Dye test*.

1957: Hartley y Marshall, en Nueva Zelanda, confirmaron por primera vez, la implicancia del *Toxoplasma gondii* en el aborto de los ovinos y la transmisión congénita.

1959: Beverley, repite la transmisión congénita observada en ratones.

1965: Hutchison, reconoció la transmisión fecal de los gatos.

1970: Frenkel *et al.*, en Estados Unidos, logró establecer los hospederos definitivos y intermediarios y la verdadera forma de transmisión en la naturaleza, al encontrar que el *Toxoplasma gondii* era un parásito del intestino de los gatos y que la forma infectante salía con las materias fecales de estos animales.

- 1974: Contreras y Tejada, estudiaron 250 muestras de ovinos faenados en el camal de la Colonial en Lima, procedentes de seis departamentos del Perú.
- 1985: Brady, Brederso y Roseblum, estudiaron la neurotoxoplasmosis en pacientes con SIDA.
- 1988: Leguía, Samame, Guerrero, Rojas y Nuñez en el Perú, estudiaron en alpacas la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*.
- 1997: Bowie, King, Werker, Isaac-Renton, Bell, Eng, realizaron un estudio sobre la probable contaminación del agua de consumo por Toxoplasma.
- 2003: Torrey y YolKent, asocian las infecciones de *Toxoplasma gondii* con cambios en la personalidad y reducción de la inteligencia o incremento de esquizofrenia.

3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Luzon *et al.* (1997) la clasificación taxonómica actualmente aceptada es:

Reino	: Protista
Sub-Reino	: Protozoo
Phylum	: Apicomplexa (Levine, 1970).
Clase	: Sporozoea (Leuckart, 1879)
Subclase	: Coccidia (Leuckart, 1879)
Orden	: Eucoccidiida (Eucoccida) (Leger y Dubosq, 1910)
Suborden	: Eimeriina (Leger, 1911)
Familia	: Sarcocystidae (Poche, 1913).
Subfamilia	: Toxoplasmatinae (Biocca, 1956)
Género	: <i>Toxoplasma</i> (N ⁵ , Manceaux, 1909)
Especie tipo	: <i>Toxoplasma gondii</i> (Nicolle y Manceaux, 1908, 1909).

4.

ESTADIOS DE DESARROLLO

Existen tres formas infectantes del parásito: los bradizoitos dentro de los quistes tisulares, los taquizoitos y los esporozoitos que se desarrollan dentro de los ooquistes.

Los quistes tisulares, con bradizoitos en su interior, constituyen la fase de resistencia endógena del parásito. Cada quiste puede contener en su interior entre 10 y 1000 bradizoitos y tarda unos 3-4 meses en alcanzar su tamaño definitivo. Se encuentran, principalmente, en órganos muy oxigenados como el cerebro, corazón y músculo esquelético. Los bradizoitos aunque son morfológicamente similares a los taquizoitos, contienen más cantidad de micronemas y gránulos de amilopectina y presentan mayor resistencia a la pepsina y la tripsina (Dubey y Frenkel, 1976).

No se conoce con exactitud los mecanismos implicados en la transformación de taquizoitos a bradizoitos, pero los estudios *in vitro* realizados hasta el momento, indican que factores inmunitarios, metabólicos y químicos (pH) y físicos, pueden participar en el proceso de diferenciación. (Bohne *et al.*, 1993).

Los taquizoitos constituyen el estadio de multiplicación rápida del parásito y son responsables de la fase aguda de la infección, pueden infectar por penetración activa o por fagocitosis en células fagocitárias y células nucleadas. Dentro de la célula se multiplica rápidamente por endodiogenia y cuando la célula infectada no puede albergar más parásitos estalla dejando en libertad numerosos taquizoitos que invaden nuevas células.

Tienen forma semilunar y su tamaño oscila entre 3 y 7 μm , estructuralmente, los taquizoitos están rodeados por una membrana externa continua y dos membranas internas, discontinuas en los extremos anterior y posterior donde forman anillos por ⁶ (Dubey *et al.*, 1998). En el extremo anterior, se distinguen los componentes del complejo apical: el conoide que es proyectado hacia fuera durante la penetración del parásito en la célula

hospedadora, y las roptrias y micronemas, con función secretora relacionada también con la penetración del parásito (Dubremetz, 1996).

Los ooquistes, tras la rotura de la célula hospedadora, son liberados a la luz intestinal, saliendo al exterior con las heces del gato. El ooquiste sin esporular, tiene forma subesférica, mide entre 10 y 12 μm y contiene en su interior el esporonte (Dubey y Frenkel, 1972).

Los ooquistes recién expulsados carecen de capacidad infectante y son muy sensibles a condiciones ambientales adversas. La esporulación puede completarse entre uno y cinco días, dependiendo de las condiciones ambientales. El ooquistes esporulado tiene forma subesférica, mide alrededor de 11 x 13 μm y contiene dos esporocistos elipsoidales (6-8 μm), con cuatro esporozoitos cada uno (2-6 x 8 μm) (Dubey *et. al.*, 1970; Dubey y Frenkel, 1972). Los ooquistes esporulados constituyen la fase de resistencia exógena del parásito, manteniendo su capacidad infectante durante meses e incluso años si las condiciones de humedad y temperaturas son adecuadas (Lindsay *et al.*, 1997).

5. CICLO BIOLÓGICO

Es un coccidio de ciclo indirecto. El parásito realiza nueve reproducciones: seis en el hospedero definitivo, uno en el ambiente y dos en los hospederos intermediarios (Rojas, 1990). En el desarrollo de *Toxoplasma gondii*, se puedan distinguir tres ciclos: el ciclo enteroepitelial, ciclo esporogónico y el ciclo extraintestinal. El *T. gondii* puede desarrollar su ciclo biológico sin necesidad de hospedadores intermediarios y por ello se le considera un parásito heteroxeno facultativo (Dubey, 1994).

El ciclo sexual se desarrr ⁷ clusivamente, en el intestino del hospedador definitivo (gatos o felinos silvestres). En el gato, por su carácter carnívoro la forma más común de infección es el consumo de quistes tisulares (bradizoitos) presentes en los animales con toxoplasmosis crónica (aves, roedores), aunque también podría ser causada por cualquiera de los otros

estadios infectantes del parásito: taquizoitos, que aparecen en los tejidos de animales con toxoplasmosis aguda, y esporozoitos, dentro de los ooquistes esporulados que se encuentran en el medio.

Los bradizoitos, liberados de los quistes tisulares por la acción de enzimas proteolíticos gastrointestinales, penetran en las células epiteliales del intestino delgado, iniciándose sucesivas fases de multiplicación asexual (esquizogonias). Tras un determinado número de esquizogonias, los merozoitos entran en nuevas células, transformándose unos en microgamontes (masculinos) y otros en macrogamontes (femenino), comenzando así la fase sexual del ciclo (gametogonia).

En el interior de los microgamontes, se originan microgametos biflagelados y los macrogamontes maduran hasta convertirse en macrogametos esféricos. Tras la fecundación, dentro de la célula hospedadora, se forma el huevo o cigoto que se rodea de una pared protectora, transformándose en ooquistes.

El período de prepatencia en los felinos, desde la ingestión de los quistes tisulares hasta la eliminación de ooquistes en las heces que varía entre tres a diez días, según la dosis infectante. Menor importancia epidemiológica en la infección del gato tiene la ingestión de taquizoitos o de ooquistes esporulados, aumentando en estos casos el periodo de prepatencia (20-40 días) y disminuyendo el número de ooquistes eliminados (Dubey y Frenkel 1972).

El ciclo esporogónico se desarrolla en el medio ambiente (Soulsby, 1987), donde ocurre otra reproducción asexual (Rojas, 2004). Los ooquistes inmaduros son excretados al medio (8) junto con las heces. Después de exponerse al aire y la humedad durante uno a cinco días, los ooquistes esporulan conteniendo dos esporocistos cada uno con cuatro esporozoitos y pueden sobrevivir en el ooquiste por muchos meses, aun bajo condiciones ambientales rigurosas (Luzon *et al.*, 1997).

El ciclo extraintestinal del parásito, se desarrolla en la oveja, caprino y todos los animales de sangre caliente; incluido el gato, que pueden actuar como hospedadores intermediarios, con la formación de taquizoitos y de bradizoitos dentro de quistes tisulares. La infección en el hospedador intermediario puede tener lugar en el periodo postnatal, o bien, producirse en la etapa fetal, por el paso del parásito a través de la placenta materna. Hablamos así de toxoplasmosis adquirida en el primer caso y de toxoplasmosis congénita en el segundo (Dubey, 1994).

La toxoplasmosis adquirida se produce por ingestión de ooquistes por ovinos, caprinos, herbívoros en general y el hombre, o de quistes tisulares por carnívoros. Los esporozoitos en el primer caso y los bradizoitos en el segundo, son liberados de su pared quística en el intestino delgado por la acción de diversas enzimas proteolíticas (Dubey, *et al.*, 1998), penetrando en las células del epitelio intestinal y en los ganglios linfáticos adyacentes.

Dentro de la célula, el protozoo se rodea de una vacuola parasitofora e inicia la etapa de multiplicación activa por endodiogenia, dando lugar así a la formación de taquizoitos. Después de 24 horas de multiplicación activa, se produce la rotura de las células parasitadas, con la consiguiente liberación de los taquizoitos e invasión de células adyacentes tras un periodo de multiplicación en los ganglios mesentéricos, los taquizoitos son liberados al torrente circulatorio y linfático, iniciándose la fase de parasitemia en la que se produce la diseminación de *T. gondii*, que puede invadir cualquier célula y tejido del cuerpo. Esta fase comienza en la especie ovina hacia el 5º día p.i (Buxton, 1990).

La toxoplasmosis congénita ⁹ produce cuando los taquizoitos atraviesan la barrera placentaria, llegando a la circulación fetal durante la fase de parasitemia materna (Thulliez, 1996). La invasión y multiplicación de los taquizoitos en las células hospedadoras continua hasta que estas mueren o hasta que el hospedador adquiere inmunidad frente a la infección. La respuesta inmunitaria del hospedador facilita la destrucción de los taquizoitos extracelulares y los intracelulares, se transforman en bradizoitos, continuando

su división por endodiogenia (Dubey y Frenkel, 1972; Thulliez, 1996). Los quistes tisulares (con bradizoitos en su interior) persisten de forma latente durante mucho tiempo, confiriendo a estos animales una eficaz resistencia frente a futuras reinfecciones (Dubey y Thulliez, 1993).

6. EPIDEMIOLOGÍA

La toxoplasmosis se ha demostrado en todas las latitudes (Blood y Radostits, 1992), tanto en poblaciones humanas como en más de trescientas especies de mamíferos domésticos y silvestres y en alrededor de treinta especies de aves de corral y silvestre (Atias y Thiermann, 1997)

6.1. DEL PARASITO

El ooquiste del *Toxoplasma gondii* constituye el eslabón más importante de la cadena epidemiológica (Dubey, 1994). Los ooquistes son dispersados en el medio ambiente a través de los vientos, lluvias, aguas superficiales, pasturas naturales, forrajes cosechados como heno, paja y granos que han sido contaminados por heces de felinos domésticos y silvestres, que van a dar origen a la infección de la ganadería (Tenter *et al.*, 2000).

Los ooquistes son diseminados en heces de felinos domésticos y silvestres de 3 a 21 días (Lindsay *et al.*, 1997). Los ooquistes esporulados pueden vivir en el medio ambiente por meses y años y son resistentes a muchos desinfectantes. Los esporos¹⁰ contenidos en los ooquistes se desarrollan después de 1 a 5 días de haber sido expuesto en condiciones apropiadas de temperatura, humedad y oxígeno.

Las formas de transmisión en la naturaleza pueden ser por ingestión de alimentos o agua contaminada con ooquistes esporulados (Dubey *et al.*, 1997; Dubey, 2004), ingestión de tejidos infectados con quistes (Tenter *et al.*, 2000) y taquizoitos por carnivorismo y necrofagia, mediante transfusión de líquidos o transplante de órganos (Dubey y Lappin, 2000) muy esporádicamente. La

fuelle más importante de contagio para los felinos domésticos y silvestres son las aves y roedores silvestres que han padecido la forma crónica de la enfermedad y poseen quistes a nivel tisular; por lo que, los felinos tienen un periodo de patencia aproximada de 7-10 días (Dubey, 1994; Venturini *et al* 1997b).

Los estudios sobre la seroprevalencia de la infección por *T. gondii* en el ganado ovino en diversos países del mundo, se muestran en el anexo 6. Los primeros estudios de seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en camélidos fueron iniciados en el Perú y posteriormente en Chile y Estados Unidos tal como se puede ver en el anexo 7.

6.2 DEL HOSPEDERO.

Teniendo en cuenta el grado de receptividad frente a la infección por el parásito, se puede establecer cuatro grupos de especies hospedadoras: a) de receptividad máxima: el gundi, el ratón, el conejo o el cobayo; en los que la infección experimental con dosis bajas del parásito puede provocar la muerte, b) de receptividad alta: la oveja, la cabra, el cerdo, el perro, el gato y también el hombre; en ellos la respuesta a la infección depende de la dosis infectante y el estado inmunitario del hospedador, c) de receptividad media: el hurón y la rata gris de laboratorio, en los animales jóvenes o inmunodeprimidos, se produce la síntesis de anticuerpos y la formación de quistes tisulares y, d) de animales sin receptividad: en general invertebrados¹¹ (helminths y artrópodos), donde el parásito no se multiplica sino que sólo sobrevive (Cordero del Campillo, 1973).

Los herbívoros como los ovinos, caprinos, bovinos y camélidos sudamericanos se infectan por ingestión de ooquistes esporulados en los pastizales contaminados con heces de gatos u otros felinos (Leguía *et al.*, 1988; Leguía y Casas, 1999). La infección en el gato se produce por vía oral tras la ingestión: de quistes con bradizoitos, presentes en los tejidos de infecciones inaparentes que actúan como reservorios; de taquizoitos, procedentes de animales con toxoplasmosis aguda, y de ooquistes

esporulados excretados en las heces de los mismos gato o felinos silvestres parasitados.

La toxoplasmosis congénita es más importante en ovinos y caprinos debido al peligro de muerte embrionario, aborto o el nacimiento de crías con lesiones, que generalmente mueren a los pocos días de nacido y al igual que en humanos, sólo se produce una sola vez cuando las borregas adquieren la primoinfección durante el estado de gestación (Leguía y Guerrero, 1986). El hombre puede contaminarse con la ingestión de quistes de toxoplasma contenidos en carnes infectadas, poco cocidos, procedente de rumiantes, cerdos y de vegetales crudos mal lavados, contaminados con ooquistes esporulados procedentes de las heces de los gatos infectados con los que conviven (Dubey y Kirkbride, 1989).

6.2. DEL MEDIO AMBIENTE

Humphrey *et al.* (1995) afirma, que los animales silvestres herbívoros probablemente llegan a infectarse por la ingestión de vegetales y agua contaminada con ooquistes. En el caso de alpacas, llamas, vicuñas y ovinos de las montañas altas; la fuente de infección podrían ser los pastos naturales infectados con ooquistes esporulados de gatos y felinos silvestres que son desparramados por la acción de las lluvias, vientos y vectores mecánicos como insectos coprófagos y perros.

Los ooquistes sobreviven ¹² en pisos húmedos y cálidos, con temperaturas alrededor de 25 °C. y suficiente oxígeno, alcanzando su estado infectante en un lapso de uno a cinco días; siendo esto los factores que ayudan a explicar la alta prevalencia de la enfermedad en climas templados y tropicales (Dubey *et al.*, 1970). Los ooquistes esporulados sobreviven en el suelo por 18 meses o más, en especial si están cubiertos del sol, resisten casi todos los desinfectantes, pero mueren con el calor y a una temperatura de 45 °C. (Dubey *et al.*, 1970) Asimismo se ha demostrado que vectores mecánicos como: la cochinilla, lombriz de tierra y mosca caseras contienen ooquistes (Dubey y

Lappin, 2000), y las cucarachas, caracoles, pulgas, piojos y chinches son vectores mecánicos adicionales.

7. IMPORTANCIA DE LA TOXOPLASMOSIS

7.1. Importancia Económica.

En ganadería, es difícil estimar correctamente las pérdidas anuales (Urcelay, 2001) por toxoplasmosis, dado que la enfermedad es generalmente esporádica y de distribución no uniforme y que una gran proporción de los abortos provocados por *Toxoplasma gondii* no son diagnosticados, debido a la ausencia de enfermedad en las madres, a diferencia de otros procesos infecciosos, no incitan a los ganaderos acudir al veterinario (Luzon *et al.*, 1997).

Las pérdidas económicas en ranchos de ovinos evidentemente son atribuidas a la toxoplasmosis (Dubey y Kirkbride, 1984). En Nueva Zelanda, en 1980, las pérdidas por abortos en ovinos, ascendieron a unos 800 millones de dolares, detectándose entre un 20 y un 30% de brotes por toxoplasmosis, porcentaje que descendió en 1990 hasta el 14% (Charleston, 1994). En Uruguay, las perdidas debido a toxoplasmosis durante la preñez, fueron estimados en 1.4-3.9% del número total de borregas investigadas, valorando aproximadamente 1.4 - 4.7 millones de dólares en todo el país (Freyre *et al.*, 1997). En el Perú, no existen estudios al respecto.

En humanos, el impacto socio¹³ económico de la toxoplasmosis y el costo de cuidado de niños enfermos es enorme; especialmente sobre aquellos con retraso mental y ceguera (Roberts y Frenkel, 1990). Los costos para el transcurso de vida de las infecciones fetales son más grandes que los costos para pacientes con AIDS. Los costos médicos son aproximadamente 500 millones de dólares anualmente para la supervivencia de casos fetales (Roberts, 1989).

7.2. Importancia en Salud Pública

La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias más comunes del hombre y de los animales de sangre caliente, ha sido encontrado en todo el mundo desde Alaska hasta Australia. Cerca de un tercio de la humanidad ha sido expuesto a este parásito. En adultos, no causa enfermedades serias, pero puede causar ceguera y retardo mental en niños congénitamente infectados y devastadoras enfermedades en individuos inmunocomprometidos (Hill y Dubey, 2002). Las tasas de reactores positivos aumenta con la edad, alcanzando su nivel máximo entre los 20 a 50 años (Acha y Szyfres, 1992), la seroprevalencia es más elevada en zonas de climas cálidos, húmedos o tropicales y menor en las regiones áridas y frías del mundo (Dubey, 1988b).

Los exámenes serológicos indican que la mayor población de animales para consumo están infectados por *T. gondii* (Dubey, 1985), los brotes descritos en los últimos años, se han asociado a ingestión de carne cruda o poco cocida, leche cruda de cabra o exposición a heces de gato (Sacks *et al.*, 1982; Luft y Remington, 1984), transfusiones de sangre, transplantes de órganos y accidentes de laboratorio (Dubey y Lappin, 2000).

En Europa, se considera que el 50% de la carne ovina está parasitada, mientras que en otras zonas como EE.UU., el porcentaje de corderos infectados destinado al consumo humano no supera al 5% atribuyéndose una importancia mayor en la infección humana a la carne de cerdo (Dubey, 1994). En el Perú, los porcentajes de prevalencia en ovinos es 40% (Leguía y Guerrero, 1986), alpacas 50% (L¹⁴ *et al.*, 1988), cerdos 25.16% (Bustamante y Suárez, 2000), constituyen un serio problema zoonótico por el consumo de la carne infectada, dado su alto porcentaje de incidencia y a la existencia de zonas hiperendémicas (Herrera y Medina, 1993). Las características epidemiológicas determinan que la mayor prevalencia de esta parasitosis, se presenta en los departamentos de la selva siguiendo la costa y, en menor frecuencia, en la sierra (Tejada y Balvin, 1989).

El consumo de carne ovina parasitada constituye una fuente importante de contagio para el hombre y, aunque no se conoce con exactitud el papel epidemiológico en la alpaca (Leguía, 1991a; Leguía, 1991b; Ramírez *et al.*, 1998). Los camélidos sudamericanos juegan un rol muy importante en la

economía de las regiones alto andinas, constituyendo su carne la fuente principal de proteína en la dieta del campesino (Suárez *et. al.*, 2004).

La toxoplasmosis, con morbilidad alta y mortalidad aparentemente bajas, no representaría un problema de salud pública, si no fuera por la transmisión transplacentaria, fenómeno de gran envergadura y las infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidas (Atias y Thiermann, 1997).

8. PATOGENIA

En general los ovinos, caprinos, herbívoros y posiblemente la alpaca, son infectados por la ingestión de agua y/o alimentos contaminados con ooquistes esporulados en el medio que, previamente, han sido contaminados con heces de los gatos y felinos silvestres infectados. En el intestino, los ooquistes se rompen y los esporozoitos son liberados para penetrar en los enterocitos. Se ha comprobado que el propio parásito toma contacto con la membrana plasmática celular y libera enzimas proteolíticos que disuelven dicha membrana, favoreciéndose así, la entrada del parásito (Dubremetz, 1996).

En la célula, el parásito se encuentra separado del citoplasma celular por una vacuola parasitofora (Tizard, 1998), sintetizada conjuntamente por el mismo y por la célula hospedador. Dentro de la vacuola parasitofora, los taquizoitos se multiplican por endodigenia. Cuando el número de taquizoitos es muy elevado, al cabo de 24 horas son liberados, previa rotura de la célula hospedadora, al medio extracelular e invaden células adyacentes. Este mecanismo de multiplicación rápida permite que, en los primeros días p.i., el *T. gondii* se propaguen hasta los ganglios linfáticos mesentericos donde gran parte de los taquizoitos son destruidos (Buxton, 1990).

Los taquizoitos, libres o incluidos en macrófagos, linfocitos o neutrófilos, son transportados por vía sanguínea y, más frecuentemente, por vía linfática a distintos tejidos. Pueden colonizar el hígado, pulmón, ganglios linfáticos, cerebro, riñones, músculo esquelético y corazón (Dubey y Lappin, 2000); multiplicándose tanto en células parenquimatosas, como fagocíticas.

La multiplicación del parásito en los tejidos da lugar a pequeños focos de necrosis rodeados de células inflamatorias, especialmente mononucleadas (Barberan y Marco, 1997; Dubey y Lappin, 2000). La gravedad de las lesiones dependerá del grado de destrucción tisular, provocado por la multiplicación de los taquizoitos y se verá agravada por la reacción inflamatoria.

En individuos inmunocompetentes, el parásito y el sistema inmune del hospedador alcanzan una situación de compromiso y, en la segunda semana p.i., disminuye progresivamente la multiplicación de los taquizoitos. No se conoce los factores que influyen en la formación de quiste intrecelulares, aunque parecen vinculados a mecanismos de inmunidad humoral y celular. Se ha comprobado que los taquizoitos permanecen más tiempo en los órganos con inmunidad menos efectiva tales como médula espinal y cerebro.

Los quistes tisulares tienen forma esférica y contienen en su interior un número variable de bradizoitos que se multiplican por endodiogenia. De esta forma, los quistes recientes suelen medir 5 μ m de diámetro y contener pocos bradizoitos (incluso 4), pero cuando maduran, el diámetro puede llegar hasta los 50 μ m con cientos de bradizoitos en su interior. Los quistes pueden aparecer en cualquier tejido, siendo más frecuentes en el músculo esquelético, corazón, cerebro y ojo (Dubey, 1994). 16

Los focos necróticos originados, durante la multiplicación activa de los taquizoitos, empiezan a ser sustituidos por células parenquimatosas o tejido cicatricial, dependiendo de la capacidad de regeneración de los tejidos destruidos. Los quistes tisulares no inducen reacción inflamatoria y pueden permanecer durante toda la vida del hospedador. En ocasiones, algunos bradizoitos escapan del quiste sin romperlo y estimulan la respuesta inmune, siendo los responsables de la inmunidad duradera en las infecciones crónicas.

En las hembras gestantes, durante la fase de parasitemia, los taquizoitos pueden llegar hasta la placenta y parasitar los septos carunculares de los placentomas, las células trofoblásticas adyacentes y las vellosidades fetales, provocando focos de necrosis.

En la placenta, no se forman quistes tisulares debido, probablemente, a las condiciones fisiológicas de los cotiledones, que favorecen la multiplicación de los taquizoitos, y en su condición de lugar deprimidos inmunológicamente en los que el parásito no es afectado por los mecanismos de inmunidad humoral o celular.

Explicar las causas del aborto por *T. gondii* resulta difícil porque, en ocasiones, las lesiones fetales no son muy importantes e incluso nacen corderos sanos de placentas con lesiones extensas. La colonización y multiplicación del parásito en los placentomas producen una inadecuada transferencia de oxígeno al feto, que causará lesiones cerebrales irreversibles e incluso la muerte. Esta puede agravarse por la acción de sustancias tóxicas liberadas durante la destrucción tisular de la placenta.

Para algunos autores, la existencia de graves lesiones placentarias puede alterar el equilibrio hormonal necesario para el mantenimiento de la gestación, favoreciéndose así el aborto (Buxton, 1990). La muerte del feto puede también ser debida a las graves lesiones provocadas por la multiplicación de *T. gondii* en órganos fetales vitales como corazón, hígado, cerebro; que pueden verse agravadas por la reacción inflamatoria que se produce en fetos parcialmente inmunocompetentes (Buxton *et al.*, 1982).

No se comprende por completo por qué algunos animales infectados desarrollan toxoplasmosis clínica en tanto que otros permanecen normales. Es posible que algunas de las diferencias se expliquen por edad, sexo, especie de hospedero, cepa de *T. gondii* número de microorganismos y etapa del desarrollo del parásito ingerido (Dubey y Lappin, 2000).

9. INMUNIDAD

Es evidente que el *T. gondii*, desarrolla mecanismos de evasión a la respuesta inmunitaria de la célula fagocitaria. Los lisosomas no se fusionan con el fagosoma y de esta manera evitan la acción de las enzimas hidrolíticas

dentro de los macrófagos y así los taquizoitos de *T. gondii* son capaces de reproducirse en el interior de la célula, en un ambiente en el que no hay ni anticuerpos ni enzimas lisosómicas (Tizard, 1998; Llop *et al*, 2001).

En experimentos realizado por Pavia (1987), inoculando cepas de RH a cuyes de guinea pigs, ha encontrado sustanciales evidencias en que la respuesta humoral y celular del sistema inmune es un importante mecanismo de resistencia del hospedero para la toxoplasmosis.

9.1. RESPUESTA CELULAR.

El primer contacto se lleva en el macrófago que transforma al antígeno fagocitado y luego lo exponen como una célula presentadora de antígeno (CPA) junto al MHC de clase II, el cual es reconocido por el Linfocito T Auxiliar, que se activa (Pizzi, 1997; Tizard, 1998) por acción de interleucinas (IL1 y IL12) secretadas por la célula presentadora de antígeno (CPA).

Las células auxiliares por estímulo de los antígenos y la CPA se van a diferenciar en: Linfocitos T Auxiliar t^{18} ;D4⁺, que van a producir interleucina - 2 (IL-2), Interferón Gamma (IFN γ) y factor de necrosis tumoral (TNF- β); y los Linfocitos T Auxiliar tipo 2 CD4⁺, producirán interleucinas (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) (Barriga, 1997; Tizard, 1998).

Los Linfocitos T Auxiliar tipo 1 CD4⁺, actúan en las respuestas inmunitarias mediadas por células, mediante la citotoxicidad de la célula T, activación de macrófagos y respuesta por Ig. G contra el toxoplasma.

El IFN γ puede actuar inhibiendo la replicación de taquizoitos en cultivos celulares (Barriga, 1997) y también activa las células mononucleares como macrófagos, células citotóxicas (TC), células asesinas naturales (NK) y otras células fagocitarias incrementando su actividad parasitocida (Pizzi, 1997;

Barriga, 1997) permitiendo la fusión de los lisosomas y los fagosomas en estos últimos.

Los Linfocitos T Citotóxicos CD8+, al ser activado por IL-2 y IFN δ , destruyen las células infectadas con *T. gondii*, a través del reconocimiento del antígeno asociado al MHC de clase 1 (Pizzi, 1997; Barriga, 1997). Estas células causarían lisis a parásitos intracelulares y extracelulares en los estadios tempranos de la infección y actuarían directamente o mediante citosina como IFN δ (Pizzi, 1997).

Una de las vías destructivas más importante en las células T activadas es la producción de óxido nítrico (NO) a partir de arginina. Los radicales nitrógeno que se forman por la interacción del NO con los radicales reactivos de oxígeno son letales para muchos protozoarios intracelulares. (Tizard, 1998)

La respuesta inmune celular se activa mejor e inmediatamente en infecciones de toxoplasmosis aguda (Brinkmann *et al.*, 1987).

9.2. RESPUESTA HUMORAL.

19

Los Linfocitos T Auxiliar tipo 2 CD4⁺, a través de la interleucina estimulan a los linfocitos B para la producción de anticuerpos Ig G, Ig A, Ig E, que actúan sobre las formas libres en la sangre y en los líquidos extracelulares a los pocos días de la infección. Algunos de los anticuerpos originan lisis del protozoario, actuando exclusivamente sobre el parásito extracelular, cuya membrana perforan con ayuda del sistema de complemento (Barriga, 1997; Tizard, 1998; Frenkel, 1986).

Los taquizoitos de *T. gondii* se transforman en forma de quiste que contiene bradizoitos. Y estos parecen ser no inmunógenos y no estimulan una reacción inflamatoria, tal vez esta etapa quística no sea reconocida como exógeno.

La toxoplasmosis clínica en pacientes con sida es debida a una reactivación de una infección crónica, probablemente mediado por deficiencia de linfocito T CD4+ (Gazzinelli *et al*, 1992).

10. CUADRO CLÍNICO

10.1. EN OVINOS

La especie domestica de valor económico más afectado por la toxoplasmosis es el ovino. Los investigadores de Nueva Zelanda, Australia y Gran Bretaña coinciden en afirmar que el *Toxoplasma gondii* es uno de los agentes etiológicos más frecuentes del aborto infeccioso en los animales, constituyendo una causa de mortalidad perinatal de corderos (Freyre y Falcon, 1989).

El problema clínico sólo es importante cuando se produce la primoinfección en ovejas gestantes, puesto que en los machos y en las ovejas vacías la infección pasa desapercibida (Falcon, 1990).

Los corderos con infección congénita muestran un cuadro clínico bastante variable, desde síndromes de aborto, nacidos muertos y mortalidad neonatal (Perry *et al.*, 1979). Algunos nacen muy débiles, con incapacidad de mamar o con signos neurológicos tales como temblores, debilidad muscular, abatimiento e incoordinación motora. Normalmente, estos animales mueren durante los primeros días de vida por inanición e hipotermia, a pesar de que se intensifiquen los cuidados (Leguía *et al.*, 1987).

Cuando la infección acontece en el 5º mes de gestación, puede producirse el nacimiento de corderos sanos o bien de corderos infectados, pero con aspecto y vitalidad normales. En estos corderos, la infección pasa inadvertida y es diagnosticada, mediante examen histológico del encéfalo. Si

los corderos infectados sobreviven la primera semana de vida, crecen normales pero inmunes y, si se dedican a la reproducción, nunca abortarán por *T. gondii*.

El cuadro de lesión se observa en las hembras gestantes, localizándose en el feto y la placenta. Las lesiones son más intensas y más graves cuando la infección se produce en el segundo tercio de la gestación, muy parecido a las cabras (Dubey, 1988a).

Macroscópicamente, la lesión más característica de la placenta, consiste en múltiples focos blancos de inflamación y necrosis; localizados exclusivamente en los cotiledones y cuyo tamaño puede variar de microscópico hasta 2-3 mm de diámetro.

Microscópicamente, aunque las lesiones puedan aparecer en casi todos los órganos fetales. En el 90 % de los cerebros, se observa focos de encefalomalacia en la sustancia blanca periventricular, manguitos linfoides perivasculares, áreas de meningoencefalitis no purulenta y focos de gliosis frecuente en el cuerpo calloso, septo pelucido, cápsula interna y pedúnculos cerebrales anteriores, provistas de ²¹ zona central de necrosis por caseificación y, raramente, por calcificación (Beverley *et al.*, 1971).

En otros órganos, como el bazo y los ganglios linfáticos, las lesiones varían en función del grado de desarrollo del sistema inmune del feto. En fetos no inmunocompetentes, se observa escasez de linfocitos y falta de diferenciación tisular en medula, corteza y folículos; mientras que en los inmunocompetentes, aparece una intensa tumefacción y edema, acompañados por hiperplasia linfoide y activación de germinales (Beverley *et al.*, 1971).

10.2. EN PORCINOS.

La transmisión de esta zoonosis es principalmente por la ingestión de carne, embutidos insuficientemente cocidas y por la manipulación de carcasas infectadas de cerdo (Suárez *et al.*, 1999), en este aspecto el cerdo es un factor de riesgo importante en la transmisión al hombre. La prevalencia de

toxoplasmosis porcina está entre las más elevadas de las especies domésticas (Freyre y Falcón, 1989)

En porcinos, la toxoplasmosis fue señalada por primera vez por Farrel *et al.* (1532) – citado en Soulsby, (1987). Desde entonces, se han descrito casos por todo el mundo, cursando en la mayoría de los casos en forma subclínica aunque ocasionalmente se presenta brotes en forma clínica, generalmente en animales jóvenes. En Costa Rica, Chávez *et al.* (1998) demuestra que la ingesta de carne cruda o mal cocida como fuente de infección para el hombre, a la par de los otros sistemas de transmisión previamente establecidos.

Los signos clínicos en cerdos, incluye fiebre, escalofríos, tos, incoordinación, relajación de los músculos abdominales, diarrea, aborto, parto prematuro, y cerditos débiles que no sobreviven. La forma aguda en los lechones puede cursar con frecuencia con signos pulmonares, que muchas veces está asociado con neumonías subclínica en las piaras (Flores, 1991; Soulsby, 1987). Las alteraciones más frecuentes en el examen post mortem son necrosis hepática focal, hidrotórax, ascitis, linfadenitis y enteritis. Bustamante y Suárez (2000) confirma la importancia que tiene la carne de cerdo como fuente de infección de la toxoplasmosis para el hombre. Encontrándose prevalencias de 25.16% (Bustamante y Suárez, 2000) y 50% (Tejada y Balvín, 1989). Los quistes tisulares de *T. gondii* en la carne de cerdo mueren a 66 °C. (Dubey *et al.*, 2005) y son declarados no viables a -12 °C en 3 días (Dubey, 1988b).

10.3. EN VACUNOS

Los bovinos son relativamente resistentes a la infección por *Toxoplasma gondii*, habiéndose encontrado quistes en la musculatura con mucho menor frecuencia y con persistencia más corta, comparada con las de otros animales (Amato Neto, *et al.*; 1995). La prevalencia de infección de toxoplasmosis en bovinos, según pruebas serológicas es moderada al compararse con las otras especies domésticas y los títulos generalmente son inferiores.

En vacunos inoculados oralmente con ooquistes, indica que el *T. gondii* puede multiplicarse en los tejidos, pero son rápidamente eliminados. Lo que sugiere que los vacunos no adquieren con facilidad infecciones persistentes. La transmisión intrauterina es extremadamente infrecuente, por lo que se considera que no causa abortos con frecuencia en vacas (Freyre y Falcón, 1989).

El diagnóstico diferencial de *T. gondii* con otros protozoarios causantes de abortos en vacas es discutible; sin embargo, se ha encontrado una prevalencia de 17% (Tejada y Balvín, 1989). En terneros, el parásito puede producir cuadros de inapetencia, dorso hundido, fiebre, disnea, tos, flujo nasal, depresión, temblores de la cabeza y cuello, ataxia, irritabilidad y otros síntomas del sistema nervioso central, identificando al protozoo únicamente en los ganglios linfáticos y solos durante unas cuantas semanas (Dubey, 1986; Flores, 1991).

10.4. EN EQUINOS.

Las encuestas serológicas realizadas²³ en diversos países indican que hay toxoplasmosis en caballos, pero relativamente es poco receptivo a la enfermedad. La seroprevalencia de la infección por *T. gondii* en caballos de Europa y América del Norte es del 15 al 30% (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En equinos, la infección asintomática es común, pero la enfermedad ocurre de modo ocasional (Acha y Szyfres, 1992). Los casos de enfermedad clínica en equinos son bastante raros, pese a existir una prevalencia moderada de esta enfermedad. Los signos clínicos más frecuentes fueron: encéfalomiелitis progresiva, ataxia, movimientos en círculo, paresia, ceguera aparente, disfagia, dificultad respiratoria.

Al examen de *post mortem*, se ha identificado al parásito cuando estos presentaban lesiones hemorrágicas focales, acumuló peri vasculares de linfocitos y macrófagos y mielomalacias multifocales en el cerebro y médula espinal (Flores, 1991)

10.5. EN PERROS

El perro es la especie animal de mayor contacto con el hombre, adquiriendo por tanto gran importancia como transmisor de enfermedades zoonóticas (Gorman *et al*, 1991); son considerados como animales de alta receptividad para esta zoonosis probablemente debido al hábito de alimentación, que facilita la ingestión de tejidos contaminados con quistes y el contacto con el suelo contaminado con ooquistes esporulados (Frenkel *et al*, 1995), se ha encontrado prevalencia de 59% en New York.

La toxoplasmosis con manifestaciones clínicas es mucho más frecuente en los perros más jóvenes, particularmente en los seis primeros meses de edad. El comienzo es insidioso, apareciendo fiebre, letargia, anorexia y diarrea; en ocasiones puede haber vómitos repentinos seguido de convulsiones, parálisis y otras manifestaciones nerviosas (Freyre y Falcón, 1989), sobre todo en cachorros con resistencia disminuida ²⁴ al virus del moquillo u otra causa (Acha y Szyfres, 1992)

El proceso de infección en perros en edad reproductiva se caracteriza por abortos, nacimientos prematuros y crías defectuosos. Los signos clínicos son: fiebre, adenopatías, gastroenteritis, encefalitis, mielitis, paresias, esplenomegalia y hepatomegalia. Según Dubey y Lappin, (2000), las lesiones oculares relacionados con toxoplasmosis, han observado: retinitis, uveitis anterior iridociclitis, hiperplasia del epitelio ciliar y neuritis del nervio óptico.

La presentación encefálica puede mostrar cambios en el comportamiento, demencia, irritabilidad, marcha compulsiva, puede presentar convulsiones, ataxia generalizada; el pronóstico se confunde con el Distemper canino (Alvarez *et al*, 1963).

10.6. EN GATOS.

Los felinos constituyen un punto clave en la epidemiología del *Toxoplasma gondii*, al constituirse en los únicos hospedadores de la forma sexual y definitiva de este parásito y por eliminar conjuntamente con sus heces. Los ooquistes son la única fuente de infección para a animales herbívoros (Langoni *et al.*; 2001; Venturini *et al.*, 1997b).

Los estudios demuestran que el gato en condiciones naturales, está frecuentemente infectado, en Memphis (Estado Unidos) se comprobó la presencia del parásitos en el cerebro de 34.3% de gatos examinados (Acha y Szyfres, 1992). En Panamá, se ha reportado una prevalencia de 45.6% en 241 gatos muestreados (Frenkel *et al.*, 1995) y en Brasil, se encontró 17.7% de muestras positivas a toxoplasma de los 248 gatos muestreados. Estos estudios nos indican que un gran número de gatos estarían expuestos a infectarse en una época futura y por lo tanto se trar 25 arían en grandes diseminadores de la infección.

La toxoplasmosis clínica no es muy frecuente en gatos (Dubey y Carpenter, 1993); sin embargo, factores iatrogénicos o naturales promueven alteración en los mecanismos de defensa, como la administración de altas dosis de corticoides y las infecciones por el virus de Inmunodeficiencia Felina (FIV) (Lucas *et al.*, 1998) pueden reactivar la infección latente resultando un cuadro sintomático de toxoplasmosis e inducir una nueva eliminación de ooquistes, aunque no por más tiempo que el normal. Se ha determinado experimentalmente que el FIV favorece la proliferación de *T. gondii* en gatos infectados crónicamente (Venturini, *et al.*; 1997a).

Los signos clínicos característicos de toxoplasmosis postnatal se manifiesta con anorexia, letargo, disnea por neumonía, fiebre persistente o intermitente, anorexia, pérdida de peso, ictericia por hepatitis o colangio hepatitis, vómitos, diarrea, derrame abdominal, linfadenomegalia, esplenomegalia, hiperestesia a la palpación muscular, rigidez en la marcha, renguera y déficit neurológico como: ataxia, cambios conductuales,

convulsiones, sacudidas y temblores (Dubey y Carpenter, 1993), en ciertos gatos se desarrolla toxoplasmosis ocular sin otros signos sistémicos de la enfermedad y resulta frecuente la uveitis anterior o posterior que afecta a uno o ambos ojos (Dubey y Carpenter, 1993).

10.7. AVES

La enfermedad se ha descrito en varias especies de aves domésticas como pollos, patos, palomas y en aves y pájaros silvestres mantenidos en cautiverio (Acha y Szyfres, 1992). Las aves y los roedores son importantes hospederos intermediarios de *Toxoplasma gondii*, sirviendo como fuente de infección para gatos. Algunas aves como las gallinas adquieren fácilmente el parásito debido a sus hábitos de alimentación, ya que pican la comida del suelo contaminado con ooquistes (Ruiz, *et al.*, 2005).

Los signos clínicos de la toxoplasmosis en gallinas se describieron, que las aves se encontraron muertas sin ninguna manifestación previa de enfermedad, aunque en algunas se apreciaron signos de anorexia, emaciación y palidez durante periodos de hasta un mes (Ericksen y Harboe, 1953-citado por Soulsby, 1987).

Mediante infecciones experimentales, se demostró que las gallinas jóvenes son las más susceptibles a sufrir enfermedad, ya que luego de inoculadas, las aves presentaron palidez y flacidez de cresta, pérdida de peso y diarrea, encontrándose el parásito en ovario y huevos de algunas gallinas. Para afectar gallinas maduras se requiere gran cantidad de inóculos. También se sabe que los pollitos de corta edad son las más susceptibles (Ruiz *et al.*, 2005).

10.8. EN EL HOMBRE

En el hombre, la toxoplasmosis habitualmente es asintomática y las formas clínicas son variables, dependiendo del órgano o sistema donde se

multiplica de preferencia el parásito (Atias y Thiermann, 1997). Sin embargo, se ha descrito brotes de toxoplasmosis aguda en el hombre alrededor del mundo.

En Panamá, un batallón de soldados americanos que entrenaban en la región del canal, fue infectada por ingestión de agua contaminada con ooquistes (Benenson *et al*, 1982). En Brasil, se reportó un brote de toxoplasmosis aguda en 17 personas que ingirieron carne cruda de ganado ovino en una fiesta (Bonametti *et al*, 1997).

Probablemente miles de casos de toxoplasmosis humana pasan desapercibidos, debido a que las manifestaciones clínicas se reducen a una ligera fiebre y aun discreto aumento (27) tamaño de los ganglios linfáticos. Las infecciones adquiridas después del nacimiento son en general menos graves que las congénitas (Acha y Szyfres, 1992). Solamente el 10 a 20% de la infecciones por *T. gondii* son sintomáticos (Beaman *et al*, 1995) y está relacionado con la virulencia de la cepa y el momento de infección durante la gestación.

En el hombre, la toxoplasmosis aguda generalizada o febril exantemática es rara y con frecuencia no se diagnóstica. Después de un periodo de incubación de unos 5 a 18 días, aparece bruscamente un síndrome febril de tipo séptico, con fiebre alta, escalofríos, sudoración, cefalea, astenia y anorexia, rara vez exantema. Es frecuente, además el dolor de faringes, tos y expectoración. En casos severos, se presentan trastornos gastrointestinales, como dolor abdominal, náuseas, vómito, diarrea o constipación (Botero y Restrepo, 2003).

Los casos severos de la enfermedad es generalizada y puede llegar a ser mortal, presentándose cuadros de hepatitis, miocarditis, encefalitis y neumonitis (Botero y Restrepo, 2003). Pero en general, la evolución es benigna, desapareciendo el cuadro característico después de varias semanas o meses.

En pacientes inmunocomprometidos, las manifestaciones clínicas son: encefalitis, neumonitis, miocarditis y retinocoroiditis progresiva (Botero y Restrepo, 2003). En Europa y África, es de 50 % a 78% de prevalencia de toxoplasmosis en pacientes infectados con SIDA y en España es la tercera enfermedad oportunista en pacientes con VIH (Clumeck, 1991). Esto se debe a una reactivación de la infección crónica latente (Atias y Thiermann, 1997).

En las mujeres embarazadas, el 90% de los casos de infección por toxoplasma, se presenta en forma asintomática. Los síntomas se manifiestan con fiebre, malestar general, cefalea, mialgias, hepatomegalia y esplenomegalia (Orejuela *et al*, 1998). La transmisión congénita de la toxoplasmosis ocurre cuando la infe²⁸ se adquiere por vía transplacentaria, por primera vez durante la gestación (Orejuela *et al*, 1998).

Las lesiones de la infecciones fetales son diversas, cuando ocurre en el primer trimestre generalmente se produce aborto, y los que llegan a término nacen con alteraciones como: hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, alteraciones oculares y microcefalia. Estos niños tienen una vida muy limitada que no superan el año de vida (Pizzi, 1997). Recientes estudios asocian la infección de *T. gondii* con cambios de personalidad y la probabilidad de reducir la inteligencia y aumento de esquizofrenia (Torrey y YolKent, 2003; McAllister, 2005).

Cuando la infección fetal se adquiere en el segundo trimestre del embarazo, se presenta lesiones oculares como: retinocoroiditis que va acompañado de micro o macrocefalia (con hidrocefalia), calcificaciones cerebrales, y retardo mental (Pizzi, 1997). La enfermedad va depender de las lesiones al momento del nacimiento; sin embargo, la mayoría de las alteraciones son menores y subclínicas, y los trastornos neurológicos y oculares pueden revelarse meses o años después del nacimiento (Botero y Restrepo, 2003; Pizzi, 1997).

La infección fetal del tercer trimestre produce una infección generalizada del feto y su aspecto es de un prematuro o niño inmaduro con cuadro clínico

caracterizado por fiebre, hepato y esplenomegalia, ictericia y algunos casos de miocarditis o neumonía intersticial (Atias y Thiermann, 1997). En algunos casos, la mortalidad llega al 12% si no se hace tratamiento y en otras ocasiones la infección pasa desapercibida sin sintomatología al momento del nacimiento (Botero y Restrepo, 2003).

11. DIAGNÓSTICO

Un adecuado diagnóstico requiere de la valoración de los datos de anamnesia, diagnóstico epidemiológico, diagnóstico clínico, diagnóstico de lesiones y diagnóstico de laboratorio.

11.1. ANAMNESIS Y DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

Es cuando la infección por *T. gondii* afecta aun rebaño negativo, estos pueden abortar hasta el 25% de las ovejas gestantes; mientras que en los rebaños seropositivos, el aborto afecta principalmente a las primíparas (Buxton, 1990).

11.2. DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y LESIONES

En individuos adultos no gestantes, la toxoplasmosis cursa de forma asintomática o con un cuadro clínico inespecífico con fiebre, taquipnea, anorexia y, ocasionalmente, diarrea, que podría confundirse con cualquier otro proceso (Buxton, 1990).

La primoinfección en gestantes, puede provocar muerte embrionaria o fetal con o sin expulsión del feto, mortalidad neonatal y el nacimiento de animales débiles y/o con malformaciones congénitas (Nurse y Lenghaus, 1986). En el momento del aborto, puede aparecer fiebre ligera y disnea. Si la primoinfección ocurre en la ultima fase de la gestación, los partos serán normales y se producirá el nacimiento de corderos infectados (Buxton, 1990).

La lesión más característica, se produce en la placenta, donde aparecen focos de necrosis, que se manifiestan en forma de punteado blanquecino de 1-3 mm de diámetro. Los fetos no presentan lesiones, pueden estar momificados o autolíticos, apareciendo edemas subcutáneos y líquidos sanguinolentos en las cavidades corporales y lesiones microscópicas, que se localizan fundamentalmente en el cerebro, hígado y pulmones (Beverley et al., 1971; Dubey y Beattie, 1988).

11.3. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Para el diagnóstico, debe remitirse al laboratorio el feto completo junto con la placenta y suero materno. Se puede realizar el diagnóstico de infección en el feto y el diagnóstico de infección en el animal adulto.

11.3.1. PRUEBAS NO SEROLOGICAS

11.3.1.1 Aislamiento del Parásito

La presencia de *T. gondii*, puede confirmarse mediante el aislamiento en ratones inoculados. El principio de la técnica es la inoculación de un macerado de tejidos fetal de cotiledones placentarios y cerebro. La inoculación es intraperitoneal y se recomienda que el ratón sea hembra, adulta y albino. Algunas cepas producen en los ratones una infección aguda (fiebre, pelo erizado) que culmina con su muerte, a los 5-12 días p.i, detectándose el parásito (taquizoitos) en el líquido ascítico. Las cepas poco patógenas provocan en los roedores una infección subclínica, encontrándose a los 28 días p.i. anticuerpos de *T.gondii* en el suero y tras el sacrificio a los 56 días p.i. quistes tisulares en el cerebro o músculo esquelético (Buxton, 1990).

11.3.1.2. Examen de Histología Convencional

Se basa en la detección de lesiones causadas por el parásito utilizando técnicas histológicas convencionales mediante la tinción de cortes histológicos con hematoxilina y eosina. Pueden observarse lesiones características de la infección o lesiones compatibles con ella. Resulta difícil detectar taquizoitos y quistes tisulares utilizando tinciones convencionales y la técnica no es válida cuando los tejidos están muy autolíticos. No se trata de una prueba diagnóstica definitiva y es necesario realizar análisis complementarios de confirmación (Atias y Thiermann, 1997).

11.3.1.3. Técnica de Inmunohistoquímica.

En la actualidad el empleo de las técnicas histoquímicas han permitido localizar e identificar al parásito en los cortes de tejido. Con estas técnicas es posible detectar quistes tisulares, taquizoitos o bradizoitos y también restos de antígeno. Pueden utilizarse anticuerpos policlonales o monoclonales específicos frente a *T. gondii*, unidos a un fluorocromo (isotiocianato de fluoresceína), o bien, utilizar la técnica de peroxidasa – antiperoxidasa – no necesita microscopio de fluorescencia para su lectura (Conley *et al.*, 1981; Ugglá *et al.*, 1987).

En la actualidad se emplea principalmente, el complejo avidina–biotina peroxidasa (ABC) de los tejidos que presentan “lesiones compatibles” en el examen histológico convencional.

11.3.1.4. Técnicas de Detección de Ácidos Nucleicos del Parásito.

Esta técnica se fundamenta en la detección y amplificación de segmentos característicos del ADN de *T. gondii* a partir de los tejidos fetales, en concreto del gen B1, TRG1 o del P30 (Burg *et al.*, 1989; Savva *et al.*, 1990). La técnica es muy sensible y específica (Muller *et al.*, 1996), siendo posible detectar contaminaciones en los tejidos por un único taquizoito. Ha sido usado exitosamente para el diagnóstico de infecciones congénitas, ocular, cerebral y toxoplasmosis diseminada (Montoya y Liesenfeld, 2004). No obstante, resulta bastante cara y requiere de buenas condiciones de laboratorio, tanto en la recogida de muestras como en el desarrollo de la prueba (Holliman *et al.*, 1990; Wastling *et al.*, 1993).

11.3.1.5. Inmunoblot

Es una técnica de biología molecular que permite visualizar los diferentes anticuerpos que aparecen en el curso de una infección en cinética, frente a frente con diferentes proteínas separadas del parásito.

Los métodos inmunobiológicos proporcionan resultados específicos; sin embargo, para obtener resultados exactos, se considera importante trabajar con métodos estandarizados y controlar los antígenos y reactivos de acuerdo con el suero patrón para toxoplasmosis (Wolf, *et al.*, 2005; Atias y Thiermann, 1997)

11.3.1.6. Prueba de Intradermo Reacción con Toxoplasmina

Es una prueba cutánea de hipersensibilidad retardada cualitativa. El antígeno que se inyecta intradermicamente, se prepara a través de toxoplasmas cultivados en embrión de pollo o inoculados en peritoneo de ratón (Botero y Restrepo, 2003). La prueba no indica una infección activa sino que revela una infección antigua y resulta de interés sobre todo en investigaciones epidemiológicas. Es una reacción que comprueba la hipersensibilidad retardada tipo IV, la positividad aparece algunos meses después de la infección y puede permanecer durante toda la vida (Acha y Szyfres, 1992)

11.3.2. PRUEBAS SEROLÓGICAS

La detección de anticuerpos específicos en los líquidos corporales del feto o de animales recién nacidos demuestra la presencia de infección, aunque su ausencia no excluye al parásito como causa del aborto. En los animales adultos, sólo un resultado negativo elimina a *T. gondii* como causa del aborto, pero la seropositividad indica, únicamente, que el animal estuvo en contacto con el parásito en algún momento de su vida (Remington *et al.*, 1968).

11.3.2.1. Prueba de Sabin Feldman o Prueba del Colorante

Requiere el uso de taquizoitos vivos que deben ser incubados con el suero problema, el complemento y un colorante (azul de metileno). La prueba es altamente sensible y específica, ha sido utilizada en cerdos por Dubey *et al.* (1995) para comparar con otras técnicas serológicas. También es aplicado a ovinos y caprinos, considerándose, actualmente, como la prueba de referencia con la que deben compararse otras técnicas serológicas (Desmonts y Remington, 1980). Presenta dos inconvenientes importantes: su elevado costo y la peligrosidad potencial que conlleva el trabajar con el parásito vivo.

11.3.2.2. Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta

Esta prueba utiliza como antígeno taquizoitos de *T. gondii* formalizados y fijados en porta objetos de inmunofluorescencia, que son incubados con diluciones crecientes del suero problema. Si existen anticuerpos específicos, se fijan a los taquizoitos y la unión se pone de manifiesto utilizando como conjugado una inmunoglobulina anti-especie (ovina-caprina) unida a un fluorocromo (isotiocianato de fluoresceína). Como inconvenientes, podemos destacar que requiere el uso de un microscopio de luz ultravioleta (Soulsby, 1987).

11.3.2.3. Prueba de Aglutinación de Látex

Como antígeno se emplea una fracción soluble de *T. gondii*, que se une a partículas de látex. En la actualidad, existen en el mercado placas de micro titulación ya preparadas. La presencia de anticuerpos específicos en el suero provoca la aglutinación de las partículas de látex, que puede observarse microscópicamente. Los títulos obtenidos con esta técnica coinciden con los de la prueba de Sabin – Feldman y la IFI (Wilson *et al.*, 1990). Además es fácil de realizar, es barata y no requiere ningún reactivo especial.

11.3.2.4. Prueba de ELISA

Para esta técnica se necesita antígeno soluble del parásito unido a la superficie de poliestireno, sobre el que se añade el suero problema. Si existen anticuerpos en dicho suero se unirán al antígeno, poniéndose de manifiesto la unión antígeno-anticuerpo mediante una enzima conjugada con peroxidasa que tras añadir una solución sustrato produce una reacción calorimétrica. Existe buena correlación si se compara con otras técnicas serológicas (Walls *et al.*, 1977), como test de coloración, hemoaglutinación indirecta (Douglas *et al.*, 1984) Las ventajas que presenta sobre IFI, son la objetividad, la automatización y la posibilidad de procesar gran número de muestras en un corto periodo de tiempo (Voller *et al.*, 1976). Es de mucha importancia para detectar los casos subclínicos de toxoplasmosis (Lappin *et al.*, 1989)

11.3.2.5. Prueba de Hemoaglutinación Indirecta

Esta prueba se fundamenta en la propiedad que tiene los anticuerpos de *Toxoplasma gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito. El empleo de ambos tipos de antígenos incrementa la sensibilidad del método permitiendo la detección precoz de la infección. Tanto la presencia de antígenos heterofilos como la aparición de Ig M, característica del periodo agudo de la parasitosis, se investigan empleando el tratamiento con 2-mercaptenol y eritrocitos no sensibilizados para el control y absorción de la heterofilia (Wiener Lab. Toxotest HAI, 2000)

11.3.2.6. Prueba de Fijación del Complemento

Se ha utilizado para determinar la presencia de anticuerpos en el suero o de antígeno en un tejido. En el caso del suero, los anticuerpos se unen al antígeno y consumen el complemento presente en el suero. Para reconocer que esta reacción ocurrió, se utiliza un sistema indicador que consiste en adicionar glóbulos rojos sensibilizados con anticuerpos (hemolisina). Para determinar la presencia de un antígeno en un tejido, se hace una suspensión del tejido, se adiciona un suero específico y el complemento. Posteriormente, se adiciona el sistema indicador. Si ³⁵geno estaba presente se consume el

complemento y no se presenta la lisis de los glóbulos rojos (Morilla y González-Vega, 1998).

11.3.2.7. Prueba de Aglutinación Modificada (MAT)

El test de aglutinación modificada solamente detecta anticuerpos de inmunoglobulina G., esta prueba es extremadamente sensible con otras pruebas. Dubey *et al.* (1995). Encontró una sensibilidad de 82.9% y especificidad de 90.29% en cerdos. El MAT ha sido mejorado en sensibilidad y especificidad para distinguir la infección crónica y aguda en humanos y gatos para detectar los trofozoitos usando mezclas de acetona y formalina respectivamente. Los anticuerpos para antígenos mezclados con acetona son elevados solamente durante infecciones agudas (< de 3 meses), mientras los anticuerpos para antígenos mezclados con formalina podrían detectar infecciones que permanecen por varios años (Dubey y Lappin, 2000).

12. TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

12.1. Tratamiento

La Toxoplasmosis cursa sin signos clínicos, sólo se detecta cuando aparecen los primeros abortos. La mayor parte de los fármacos anti toxoplasma sólo destruyen los taquizoitos sin mostrar actividad frente a los bradizoitos de los quistes tisulares. Aunque el diagnóstico precoz de las ovejas con infección activa, podría reducir la incidencia de la infección fetal.

Un fármaco eficaz en el tratamiento de la toxoplasmosis, tiene que ser activo frente al parásito, capaz de distribuirse sistemáticamente y de atravesar la barrera placentaria. Los fármacos con alguna actividad anti toxoplasmática en medicina humana como animal, son: sulfonamidas, pirimidinas (pirimetamina), tetraciclinas (minociclinas) y antibióticos ionoforos.

La terapia más efectiva actualmente³⁶ se consiste en una combinación de sulfonamidas (sulfadiazina, sulfametacina o sulfameracina) y pirimetamina, que

actúan sinérgicamente, bloqueando en el parásito la ruta metabólica que implica el ácido p-aminobenzoico y el ciclo del ácido folico-folinico, respectivamente. Los fármacos se administran durante tres días seguidos, repitiéndose 3 veces a intervalo de 2 semanas para disminuir los efectos potencialmente tóxicos de ambos productos (Buxton *et al.*, 1993).

Es necesario descubrir nuevos fármacos activos frente a la forma quística (bradizoito) del parásito. En este sentido, la atovaquona ha mostrado actividad *in e in vitro* frente a las formas quísticas (bradizoitos) y proliferativas (taquizoitos) de *T. gondii*. Este fármaco reduce notablemente el número de quistes presentes en los músculos sin provocar una reacción inflamatoria desfavorable (Ferguson *et al.*, 1994). Además, su actividad frente a los taquizoitos se incrementa si se combina con pirimetamina o sulfadiacina (Araujo *et. al.*, 1993).

12.2.0 Profilaxis

12.2.1. Medidas Higiénico Sanitario

El control de la infección puede realizarse también evitando que los gatos tengan acceso a carne cruda de animales infectados, placentas o fetos abortados. Además evitar que sus heces contaminen el alimento del ganado, para lo cual han de destruirse antes de que los ooquistes esporulen (Dubey, 1996).

No eliminar del rebaño a las ovejas que hayan abortado, ya que esta infección concede inmunidad y las ovejas abortan una sola vez en la vida por esta causa, por lo que pueden mantenerse en el rebaño después de abortadas.

En los rebaños infectados, se deben aplicar medidas que faciliten la exposición a la infección de las ³⁷ ; receptivas (animales jóvenes de reposición y animales recientemente introducidos), dos o tres meses antes de la cubrición. Es una práctica adecuada para el control del aborto por toxoplasmosis.

12.2.2. Inmunoprofilaxis

Sin duda, la vacunación de ovejas cabras y gatos constituye el mejor método para controlar las pérdidas en las explotaciones ganaderas y para el desarrollo de programas integrados de prevención de la toxoplasmosis humana y animal. Hasta el momento, el desarrollo de prevención de inmunidad activa en animales de experimentación con toxoplasma, vivos y muertos, en base a taquizoitos (Domzig, *et al.*, 1993) y con fracciones antagónicas del parásito ha sido parcialmente satisfactorio.

En 1988, se comercializó la primera vacuna viva para el control del aborto ovino y caprino por *toxoplasmosis* en Nueva Zelanda y, posteriormente, en 1992, en el Reino Unido e Irlanda del Norte. Esta vacuna está constituida por taquizoitos de una cepa incompleta (S48) de *T. gondii*, adaptada para cultivo in vitro, que ha perdido la capacidad para producir quistes tisulares en los hospedadores intermediarios y ooquistes en el gato. Esta vacuna es fácil de administrar y proporciona protección (Buxton, 1993), pero desde el punto de vista comercial y el corto periodo de vida de la vacuna (2-3 semanas) son problemas a considerar. Por otra parte, al tratarse de una vacuna viva, puede ser causa de infecciones en el hombre, por lo que no debe ser manipulada por mujeres embarazadas y personas inmunodeprimidas.

III. MATERIAL Y METODOS

1.0. CARACTERISTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO:

1.1. Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo a partir de enero de 1999 hasta marzo del año 2000, en el Centro de Investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos (CIDCS)-Lachocc, de la Universidad Nacional de Huancavelica. Ubicado en el paraje de Tucumachay, distrito, provincia y región de Huancavelica, a una altitud promedio de 4,450 m.s.n.m, y a una distancia de 32 Kilómetro de la carretera troncal Huancavelica – Pisco.

El área presenta una topografía con características de alta montaña propia de los andes centrales, con pisos subalpino y alpino, cuya superficie total es de 963,675 Ha., está constituida por pasturas naturales predominantemente por las especies de: chilligua (*Festuca dolichophilla*), crespillo (*Calamagrostis vicunarum*), ichu (*Stipa ichu*), pacu pacu (*Aciachne pulvinata*), cuncuna (*Distichia muscoides*) entre otros que son la base fundamental para la alimentación de los camélidos, en especial para las alpacas y llamas.

1.2. Ubicación Geográfica

El lugar de estudio se encuentra ubicado en la región centro sur del país entre los paralelos 11° 16' 10" y 14° 07' 43" Latitud Sur y los meridianos 74° 16' 15" y 75° 48' 55" Longitud Oeste del meridiano de Greenwich. Sus límites son: por el Norte con la región Junín, por el Sur con la región Ica, por el Este con la región Ayacucho, y por el Oeste con las regiones de Lima e Ica.

La superficie total cubre una extensión de 22,131.47 Kilómetros cuadrados. La orografía es muy accidentada y está conformada por la cordillera central, que constituye la "Cordillera de Chonta", espina dorsal del departamento; comprende diferentes pisos ecológicos, con altitudes que varían entre los 1,950 y 5,200 m.s.n.m. (INEI, 2003).

1.3. Clima

Se registra las mayores temperaturas durante los meses de mayor pluviosidad que comprende entre diciembre hasta abril; y los meses más fríos en junio, julio y agosto. La temperatura promedio anual varía entre 4 y 21 °C., la máxima superior a 23 °C., y la mínima es -4 °C. (SENAMI, 2005). Las oscilaciones de temperaturas en la zona, son ocasionadas directamente por efectos de la altitud y topografía.

La mayor precipitación pluvial ocurre durante los meses de enero, febrero y marzo, donde ocurre el 70% de la precipitación total anual. La precipitación máxima es 1,078 mm., la mínima de 413 mm. y la precipitación media anual es de 990 mm (SENAMI, 2005).

2.0. ANIMALES DEL EXPERIMENTO

2.1. Población Pecuaria

La población en el Centro de investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos–Lachocc, estuvo compuesta por 362 alpacas hembras, 137 “tuis menor” (alpaca de 6-7 meses o destetada hasta el año de edad), 31 “tuis mayor” (alpaca de un año hasta los dos años de edad aproximadamente) y 205 alpacas machos haciendo un total de 735 animales, además un total de 214 llamas.

2.2. Población de estudio.

Se realizó la detección de animales reactores positivos a *Toxoplasma gondii* mediante un examen serológico por Hemoaglutinación Indirecta (HAI) en 332 alpacas hembras aptas para la reproducción, antes del inicio de la época de empadre (enero de 1999). Posteriormente fueron descartadas 30 alpacas hembras del total de la población, por no estar en condiciones sanitarias adecuadas para el inicio del empadre.

Se obtuvieron 150 alpacas hembras de 2 hasta los 7 años de edad sin presencia de anticuerpos de *T. gondii*. Estas alpacas fueron identificadas con aretes para conocer fecha de nacimiento y clase según tipo de fibra (extra, A, B, C y Rechazo). Se colocó, adicionalmente, una cinta de color para identificar a distancia a los animales del experimento permitiendo una rápida detección. Posteriormente regresaron a sus puntas respectivas, sin recibir manejo o consideración adicional durante el proceso de evaluación.

En el estudio, se empleó el “empadre alterno o rotatorio” utilizándose 6% de machos para el periodo de 60 días que dura el empadre. Cada semana, se usaban un 50% de machos, los que eran cambiados en la siguiente semana por otro 50%, de tal manera que se mantenían alta tasa de montas (Novoa, *et al.*; 1973), de esta forma se incrementa la oportunidad de ser servidas

nuevamente las hembras que fallaron en ovular o tuvieron mortalidad embrionaria.

3.0 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Con las 150 alpacas hembras seronegativas a *T. gondii* se siguió un estudio de cohorte única (Guerrero *et al.*, 1986), realizado durante la época de reproducción de alpacas 1999-2000. Considerándose día “0” la fecha del inicio del empadre, luego se continuó el muestreo de sangre los días 4, 8, 12, y 16, post empadre para poder determinar el inicio de la gestación mediante análisis de Radio Inmuno Ensayo (RIA). Posteriormente, en los días 90, 180 y 270 se tomaron muestras de sangre para realizar el examen serológico mediante HAI y detectar infección por *T. gondii*; además, en forma paralela se realizó los exámenes de ecografía y balotaje para determinar el estado de gestación de las alpacas.

3.1. Toma de Muestra

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción directa de la vena yugular, en ocho oportunidades por animal, para obtener un total de 1,098 muestras, utilizando el siguiente procedimiento:

La toma de muestra se realizó e 6 a 10 a.m. en sus respectivas canchas de pastoreo, divididas en cuatro y cada una de ellas estaba separada por una distancia de 2 a 4 Kilómetros; por lo que generalmente, se tomaba la totalidad de muestras en 2 jornadas de trabajo.

Las muestras de sangre tomadas de la vena yugular, utilizando tubos de venojel de 10 cc y agujas descartables N° 20 X 1, fueron trasladadas al laboratorio para romper el coagulo y luego se procedió a centrifugar a 3,000 r.p.m. durante 5 minutos para separar el suero (previa identificación de la muestra); estos fueron trasladados a viales de capacidad de 1.5 cc., y conservados en congelación a -20 °C., hasta ser procesado por la prueba de hemoaglutinación indirecta (HAI).

3.2. Material de laboratorio

Para el análisis de las muestras, se contó con materiales del laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos consistente en centrífuga, microdilutor de 8 canales, micropipeta de un canal, tubos de prueba de 10 y 5 ml., Kit de hemoaglutinación indirecta, vasos de precipitación, toallas descartables, estufa, refrigerador, ecógrafo, guantes de plástico, policubeta.

4.0. MÉTODOS

4.1. Técnica de la Hemaglutinación indirecta (HAI).

Titulación sin 2 – Mercaptoetanol

Se utilizó el Kit comercial de toxotest HAI (Wiener lab, 2000)

1. Pasar un trapo húmedo por la base de la poli cubeta de 96 pocillos, para eliminar la carga electrostática.
2. Colocar 25 ul de diluyente de suero HAI en cada pocillo a usar de la poli cubeta.
3. Colocar 25 ul de los sueros problema y los controles a ensayar, en los pocillos de la primera fila.
4. Realizar diluciones a partir de la columna 1 (dilución $\frac{1}{2}$) pasando los microdilutores a la columna 2 (dilución $\frac{1}{4}$) y así sucesivamente hasta la columna 8.
5. Colocar en la columna 1 y 2 (diluciones $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$) 25 ul de glóbulos rojos no sensibilizados, para control de heterofilia.
6. Agregar 25 ul. de antígeno HAI en el resto de los pocillos.
7. Agitar la policubeta golpeando con los dedos en las paredes laterales, durante un promedio de 30 segundos.
8. Dejar en reposo durante 90 minutos.
9. Leer sobre un fondo blanco de adelante hacia atrás.

Para la Interpretación de los resultados ⁴³ se consideraron las muestras como:

- No reactiva. La presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares.
- Si reactiva. Formación de una película o manto que cubre el 50 % o más de los pocillos.

Se consideró como positivo los valores $\geq 1/16$ (punto de corte) de acuerdo al Kit comercial Toxotest – HAI.

5.0. POBLACIÓN

Las unidades de análisis fueron 362 alpacas, para lo cual se aplicaron las siguientes razones:

Criterios de Exclusión. Se consideró a las alpacas que presentaban alteraciones en el canal genital con menos de 33 Kilogramos de Peso Vivo. Animales caquécticos y animales que no habían tenido crías en dos campañas consecutivas. Se separaron 30 alpacas hembras de raza huacaya y suri no aptas para la reproducción.

Criterio de Inclusión. Se consideró a las alpacas aparentemente sin alteración en el canal genital con más de 33 Kilogramos de Peso Vivo, y buenas condiciones de carne. Se seleccionó a 332 alpacas hembras de raza huacaya y suri aptas para la reproducción.

De este total, se obtuvo alpacas hembras no infectadas con el parásito, es decir, animales seleccionados que no mostraban anticuerpos de *T. gondii*, pero que se encontraban aptas para el inicio de la campaña reproductiva 1999. Se eligieron 150 alpacas (Bonilla, 1991) de 2 hasta 7 años de edad del Centro de Producción e Investigación de Camélidos Sudamericanos–Lachocc.

Lamentablemente, a los 3 meses del inicio del estudio (Mayo, 1999) la Universidad Nacional de Huancavelica, realizó una saca de emergencia, contándose con sólo 108 alpacas. 44 ese momento, hasta la finalización del estudio.

6.0. INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS

6.1. Prevalencia.

Prevalencia de punto es el número de casos nuevos y antiguos en un momento determinado (Sanabria, 2003):

$$\begin{array}{l} \text{PREVALENCIA} \\ \text{DE PUNTO} \end{array} = \frac{\begin{array}{l} \text{Número de casos de una enfermedad existente en} \\ \text{una población en un espacio de tiempo determinado} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Número de animales en esa población en el} \\ \text{mismo espacio de tiempo determinado} \end{array}} \times 100$$

6.3. Incidencia.

La incidencia, en contraste con la prevalencia, cuantifica el número de casos nuevos de la enfermedad en una población en riesgo y en un tiempo determinado (Sanabria, 2003)

$$\text{INCIDENCIA} = \frac{\begin{array}{l} \text{Número de casos nuevos de una enfermedad en} \\ \text{un periodo determinado} \end{array}}{\text{Población en riesgo en el mismo periodo}} \times 100$$

$$\begin{array}{l} \text{INCIDENCIA} \\ \text{ACUMULADA} \end{array} = \frac{\begin{array}{l} \text{Número de casos nuevos de animales que} \\ \text{enfermaron durante el periodo de estudio} \end{array}}{\text{Población en riesgo en el mismo periodo}} \times 100$$

Número de animales de la población
al inicio del estudio.

6.3. Tasa de Fertilidad

La tasa de fertilidad es la proporción de hembras apareadas que conciben (Hafez y Hafez, 2002). La fertilidad, es la capacidad para producir cierto número de descendientes viables en un determinado periodo reproductivo (Oteiza y Carmona, 1993).

$$\text{TASA DE FERTILIDAD} = \frac{\text{Número de animales diagnosticados con preñez.}}{\text{Número de animales que ingresaron al empadre.}} \times 100$$

6.4. Tasa de Aborto

El aborto es definido como la pérdida del producto de la concepción a partir del periodo fetal (después de cuarta o quinta semana de gestación) hasta antes de las 42 semanas aproximadas de gestación, para el caso de las alpacas (Ameguiño y DeMartini, 1991), para estimar la tasa de aborto o pérdida fetal (Andressen, 1999), se calculó:

$$\text{TASA DE ABORTO} = \frac{\text{Número de muertes fetales}}{\text{Número de preñadas en riesgo de abortar}} \times 100$$

6.5. Tasa de Mortalidad Perinatal

Mortalidad perinatal es aquella que ocurre durante los cuatro primeros días de vida, incluyendo a las crías que nacen muertas y/o a las que mueren durante el parto (Ameguiño y DeMartini, 1991)

$$\text{TASA DE MORTALIDAD PERINATAL} = \frac{\text{Número de crías muertas antes de los 4 días de edad.}}{\text{Número de nacimientos vivos}} \times 100$$

7.0. Análisis Estadístico

Los resultados de las frecuencias fueron expresadas en forma porcentual, siguiendo una distribución normal a la binomial, con un nivel de confianza de 95%, un error máximo admisible de 5%.

7.1. Chi Cuadrado.

El análisis estadístico, se realizó mediante la prueba estadística de Chi cuadrado, para determinar la posible asociación entre las variables: La infección de *T. gondi* con estado reproductivo; La primera infección de *T. gondii* y las edades de las alpacas (Bonilla, 1991).

7.2. Prueba Exacta de Fisher

Se utilizó la Prueba Exacta de ⁴⁷ para determinar la igualdad entre las variables: La infección de *T. gondii* con abortos y mortalidad perinatal (Daniel, 2004).

7.3. Ecuación de Estimación Generalizada (G.E.E.)

Análisis en estudios longitudinales con mediciones repetidas a través del tiempo, en alpacas preñadas seropositivas y seronegativas en relación a abortos (Zeger y Liang, 1986).

V. RESULTADOS.

El cuadro 1 muestra que la seroprevalencia de *T. gondii* en alpacas hembras del Centro de Investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos–Lachocc, antes del inicio de la campaña de empadre del año 1999 - 2000 fue 36.45% (121/332), mediante la técnica de Hemoaglutinación Indirecta.

El cuadro 2 muestra la incidencia de *T. gondii* en alpacas hembras durante la campaña reproductiva 1999-2000, en los periodos 0-16, 17-90, 91-180 y 181-270 días post empadre, la cual varió desde 5.56% (6/108) hasta 8.51% (8/94) y la incidencia acumulada a los 270 días fue 25.00% (27/108).

El cuadro 3 muestra que la tasa de fertilidad de alpacas durante la campaña reproductiva 1999-2000, fue de 70.37%; es decir que 76 alpacas de las 108 resultaron preñadas, de ellas el 27.63% (21/76) se infectaron con *T. gondii* en algún momento de su preñez y 72.36% (55/76) no lo hicieron. A la Prueba de Chi cuadrado, no se halló diferencia significativa ($p>0.05$) entre animales fértiles y su seroconversión.

El cuadro 4 muestra las tasas de abortos según trimestre de gestación, para alpacas positivas a infección por *Toxoplasma gondii* en los periodos 90-180, 181-270 y 271-330 días, las que fueron 9.52%(2/21), 15.79%(3/19) y 12.50%(2/16) respectivamente. A la Prueba Exacta de Fisher, no hubo

diferencia significativa ($p>0.05$) entre animales que abortaron y los que seroconvirtieron.

El cuadro 5 muestra que la tasa de mortalidad perinatal, observada en alpacas seroreactoras a *Toxoplasma gondii* fue 21.43% (3/14) y para las alpacas negativas de 4.17% (2/48), con un estimado de mortalidad perinatal total de 8.06 % (5/62). A la prueba exacta de Fischer, no hubo diferencia significativa ($p>0.05$) entre animales que presentaron mortalidad perinatal y los que seroconvirtieron, mostrando que la tasa de mortalidad perinatal es independiente de la infección de *T. gondii*.

El cuadro 6, evidencia que mediante el modelo de ecuación de estimación generalizada (G.E.E), no existiría diferencia estadística significativa ($p>0.05$), asumiendo que la infección de *T. gondii*, ajustado por edad, tipo y periodo de gestación no influyen en el aborto de alpacas gestantes seropositivas y seronegativas. Pero, estima la probabilidad de tener un aborto en el grupo de seropositivas es de 3.3 veces más, que la probabilidad de tener un aborto en el grupo de seronegativas a toxoplasmosis.

CUADRO 1. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas del CIDCS Lachocc. U.N. de Huancavelica 1999.

Especie	Animales muestreados	Animales positivos	Prevalencia %
Alpacas	332	121	36.45

CUADRO 2. Incidencia de *Toxoplasma gondii*, en alpacas hembras del CIDCS – Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.

	Incidencia después del Empadre				
Prueba HI.	0-16 Días	17-90 Días	91-180 Días	181-270 Días	Incidencia Acumulada
Positivo	5.56% (6/108)	7.84% (8/102)	8.51% (8/94)	5.81% (5/86)	25.00%(27/108)

CUADRO 3. Infección por *Toxoplasma gondii* y Estado Reproductivo en alpacas hembras del CIDCS – Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.

Infección por <i>T. gondii</i>	Estado Reproductivo		Total
	Fértiles	No Fértiles	
Positivo	27.63% (21/76)	18.75% (6/32)	25.00% (27/108)
Negativo	72.36% (55/76)	81.25% (26/32)	75.00%(81/108)
Total	70.37% (76/108)	29.63% (32/108)	

$X^2 = 0.330$; $p > 0.05$.

CUADRO 4. Infección por *Toxoplasma gondii* y Abortos en alpacas hembras del CIDCS - Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.

Infección por <i>T. gondii</i>	Tasa de Abortos según Trimestres de Gestación		
	90 -180 días	181-270 días	271–330 días
Positivo	9.52% (2/21)	15.79% (3/19)	12.50% (2/16)
Negativo	5.45%(3/55)	1.92% (1/52)	5.88% (3/51)
TOTAL	6.58% (5/76)	5.63% (4/71)	7.46% (5/67)

FISHER = 0.560: $p > 0.05$.

CUADRO 5. Infección por *Toxoplasma gondii* y Mortalidad Perinatal en alpacas hembras del CIDCS – Lachocc, U.N. de Huancavelica – 2000.

Infección por <i>T. gondii</i>	Mortalidad Perinatal		Total
	Muerto	Vivo	
Positivo	21.43% (3/14)	78.57%(11/14)	22.58% (14/62)
Negativo	4.17% (2/48)	95.83%(46/48)	77.42% (48/62)
Total	8.06% (5/62)	91.94% (57/62)	

FISHER = 0.071; $p > 0.05$.

CUADRO 6. Parámetros estimados del modelo de Ecuación de Estimación Generalizada en cohorte de alpacas gestantes.

ABORTO	Coeficiente	Error Estandar	Nivel de Confianza P > /z/
INFECCIÓN	1.250214	0.642642	0.052
EDAD	0.3392942	0.2136928	0.112
TIPO DE GESTACIÓN	-1.421214	0.8297693	0.087
PERIODOS	0.2400308	0.2916869	0.411
CONSTANTE	-4.549814	1.225036	0.00

G.E.E. = 0.052; 0.112; 0.087; 0.411; $p > 0.05$; OR = $e^x = 3.3$

VI. DISCUSIÓN

La toxoplasmosis es una de las enfermedades de mayor distribución a nivel mundial, ya que tiene una amplia importancia en salud pública y veterinaria. El curso de la enfermedad es habitualmente subclínico, pero la forma congénita constituye en algunos mamíferos una de las principales causas de aborto y mortalidad neonatal (Arthur *et al.*, 1991).

En la actualidad, no se cuenta con información científica, que precise el papel de la toxoplasmosis en aspectos reproductivos en camélidos sudamericanos domésticos. Leguía *et al.* (1988), en un estudio de seroprevalencia de *T. gondii* en alpacas hembras de la zona de Picotani–Puno, recomiendan realizar estudios tendientes para determinar el verdadero papel del *T. gondii*, en la mortalidad embrionaria, aborto y mortalidad perinatal.

La frecuencia de abortos, mortalidad embrionaria y perinatal en rebaños de camélidos, constituyen un problema actual y especularon que el *T. gondii* constituiría uno de los agentes responsables (Suárez *et al.*, 2004). Sin embargo, Góngora (1992); Gómez *et al.* (2003); Poma (2003); Marcas *et al.* (2004); Chang (2005); Wolf *et al.* (2005); refieren que se requieren más estudios para determinar si este parásito constituye uno de los agentes causales involucrados en los abortos y mortalidad pre y post natal de las alpacas.

De acuerdo a estos hallazgos, se realizó el seguimiento de la infección de *T. gondii*, en alpacas del Centro de Investigación y Desarrollo de Camélidos

Sudamericanos–Lachocc, inicialmente se monitoreó la seroprevalencia de *T. gondii* en la totalidad de alpacas hembras (332) que ingresaron a la campaña de empadre 1999-2000. Posteriormente, se realizó el seguimiento de la primoinfección y problemas reproductivos (aborto y mortalidad perinatal) sólo a los animales que resultaron negativos a *T. gondii* al inicio de la campaña.

En la evaluación inicial de la totalidad de alpacas hembras, se evidenció una seroprevalencia de *T. gondii* del 36.45% (121/332), cifra relativamente alta al ser comparada con otros resultados. Sin embargo, las diferencias encontradas pueden ser debido a las diferentes técnicas de evaluación empleadas en el diagnóstico, las mismas que son susceptibles a variaciones en cuanto a sensibilidad y especificidad. La presencia frecuente del hospedero definitivo como felinos domésticos y/o silvestres y su convivencia con otros hospederos intermediarios como mamíferos, roedores, aves e insectos en el área de estudio.

La especie de camélido sudamericano y consecuentemente su manejo y carga animal constituirían aspectos que modificarían los resultados. Igualmente la ubicación de los animales en las diferentes áreas geográficas, con la consiguiente variación del medio ambiente, como la temperatura, humedad, diversidad de plantas y animales (Tenter *et al.*, 2000; Brack, 1977) aspectos que jugarían roles importantes en la biología del *T. gondii*.

Los primeros estudios realizados sobre este tema fueron ejecutados en la zona sur del país por Leguía *et al.* (1988) quien utilizando la técnica de hemoaglutinación indirecta, encontró en alpacas hembras de la SAIS Picotani-Puno, una seroprevalencia del 50%. Posteriormente, Gómez *et al.* (2002) reportaron un 56% en alpacas hembras de la estación experimental del INIA–Quimsachata. Ambos resultados fueron indudablemente superiores a los reportados en este estudio. Aun cuando las áreas mencionadas se encuentren ubicadas en zonas denominadas de puna seca, las prevalencias encontradas pueden atribuirse a la elevada contaminación de las pasturas con ooquistes de *T. gondii*, proveniente de las heces de felinos domésticos o silvestres presentes en la SAIS Picotani (Leguía *et al.*, 1988), así como a la elevada carga animal y

pastoreo de las alpacas del INIA–Quimsachata en zonas húmedas (Gómez *et al.*, 2002).

La prevalencia de *T. gondii* hallada en nuestro estudio fue relativamente alta y puede ser atribuida a diferentes factores; entre estos factores esta, la presencia de gatos domésticos (*Felis catus*) de los pastores y comuneros aledaños al CIDCS-Lachocc que se alimentan de ratones, aves silvestres y restos de carcasas y vísceras de alpacas posiblemente infectados con *T. gondii* (Leguía, 1990). Asimismo, la presencia de felinos silvestres como el puma (*Felis concolor*) y gato montés (*Felis silvestres*) (INEI, 2003), que pueden diseminar los ooquistes después de infectarse por el consumo de animales silvestres (Leguía, *et al.*, 1988; Leguía, *et al.*, 1987).

Otro factor que favorecería la presentación, sería la época de lluvias en Huancavelica, que se inicia en el mes de setiembre y finaliza en mayo (INEI, 2003). Las lluvias hacen que se formen oconales o bofedales, que son lugares pantanosos y húmedos con vegetación herbácea, presentando un microclima (Florez, 1991) que facilitarían la esporulación y la supervivencia de los ooquistes por largo tiempo, debido a su resistencia a bajas temperaturas (Dubey, 1998). Estudios epidemiológicos en British Columbia de Canadá evidenciaron la infección a través del agua, ya que el reservorio municipal de agua fue contaminado con heces de puma -*Felis concolor*- con ooquistes de *T. gondii* (Aramine *et al.*, 1999).

El Centro de Investigación de Camélidos Lachocc, se encuentra ubicado hacia el borde oriental de los andes peruanos (Rubina y Barreda, 2000) en zona denominada puna húmeda, la misma que facilitaría la viabilidad de los ooquistes y consecuentemente la probabilidad de sobrevivencia de estos, que se prolongaría por encima de los 54 meses (Dubey, 1998). Estudios sobre seroprevalencia de *T. gondii*, realizados en la SAIS Túpac Amaru, ubicada en la zona central del país, utilizando la misma técnica de diagnóstico, hallaron 18.18% (Poma, 2003). Resultado inferior a los antes señalados e incluso al nuestro, que podría explicarse por la baja frecuencia de hospederos definitivos como gatos domésticos y pumas en la zona de Cochas; las buenas prácticas

de manejo de alpacas, mediante una adecuada clasificación por edad, sexo, raza y color; así como un adecuado descanso y rotación de canchas de pastoreo y la existencia de un camal para el beneficio de alpacas (Carpio, 1991).

Factores de manejo harían que la dinámica de los ooquistes de *T. gondii* no tenga la capacidad de dispersión, por lo tanto, la seroprevalencia resultaría baja, aún cuando Cochas se encuentra ubicada en zona denominada húmeda. Por el contrario el manejo, en Lachocc, no presenta un adecuado descanso ni rotación de canchas de pastoreo, debido a problemas sociales como invasión de canchas de pastoreo con ganado mixto de comuneros vecinos.

Utilizando la técnica de inmunofluorescencia indirecta en Chucuito-Puno, Góngora (1992) encontró una seroprevalencia a *T. gondii* del 24%; resultado que se debería básicamente al área geográfica de la zona alta de Chuchito que corresponde a puna seca con escasas áreas de bofedales y vegetación predominante de Tola (*Parastrephia lepidophylla*) (Flórez, 1991). Estudios más recientes realizados con la misma técnica, en alpacas hembras de la estación experimental del Centro de Investigación IVITA-Maranganí-Cusco (Suárez *et al.*, 2004) encontraron 44.8%; mientras que Ramírez, (2005) en Canchis, Cusco reportó 35.70% de seroprevalencia de *T. gondii*. Evidenciándose, valores ligeramente más elevados en Marangani a pesar que los factores medio ambientales son casi semejantes entre ellos, e incluso al nuestro, el estar ubicado hacia la vertiente oriental, caracterizada por ser zonas de puna húmeda. La diferencia estaría dado por la frecuencia de los felinos domésticos en poblaciones cercanas al IVITA Maranganí, que son relativamente diferentes a Canchis y Lachocc las cuales se encuentran adentrados más hacia la falda de las montañas altas; por lo tanto, tendrían un menor contacto con felinos domésticos.

Evaluaciones realizadas en llamas hembras mediante la técnica de Inmunofluorescencia indirecta, por Saravia *et al.* (2004) en la Rural Alianza, Marcas *et al.* (2004) en el fundo San Luis – IVITA y Machuwasi – UNA; ambos en Melgar-Puno y Chang (2005) en la SAIS Pachacutec, reportaron

seroprevalencia a *T. gondii* de 10.19%, 47.5% y 13.65%, respectivamente, evidenciando la probabilidad de riesgo de infección en llamas adultas.

La variabilidad de los resultados presentados en estos tres estudios, se debería probablemente a la baja contaminación y receptividad de las llamas al *T. gondii* en sus respectivos campos de pastoreo (Saravia *et al.*, 2004; Chang, (2005); mientras que los resultados de Marcas *et al.* (2004) reportan una elevada seroprevalencia. Esto se debería probablemente, al manejo de las llamas que permanentemente son movilizadas y manipuladas para fines de investigación, por lo tanto, tienen mayor oportunidad de contaminarse con ooquistes de *T. gondii*, por estar casi siempre cerca de poblaciones humanas que tienen felinos domésticos.

Estudios realizados en camélidos sudamericanos, en otras partes del mundo, demuestran resultados variables. Es así, que mediante el examen serológico de 447 alpacas de Chile, utilizando la técnica de hemoaglutinación indirecta se reportó una seroprevalencia corregida de 16.3%, resultado relativamente bajo, el cual se encontraría asociada a una baja oportunidad de contacto con gatos domésticos y felinos salvajes en áreas desérticas (Gorman *et al.*, 1999). En el mismo país del sur, con la misma técnica de evaluación, Rojas *et al.* (1989) reportaron prevalencia en camélidos hembras; 24.4% en alpacas, 26.1% en llamas y 27.3% en vicuñas.

En Estados Unidos, mediante el examen de hemoaglutinación indirecta, Dubey *et al.* (1992) encontraron 33.5% de seroprevalencia en llamas, resultado muy similar al nuestro aún cuando existe desigualdad ecológica y el uso de tecnología en la crianza de camélidos. En Egipto, mediante la técnica de aglutinación directa, Hilali *et al.* (1998) reportaron una seroprevalencia de 17.4% (29/166) en camellos. Este resultado se debería a que las áreas de crianza de camellos generalmente son zonas áridas y secas. Finalmente, en Alemania, Wolf *et al.* (2005) encontraron 57.1% y 75% de prevalencia en alpacas y llamas respectivamente, mediante la técnica de inmunoblot, que tiene mayor sensibilidad como instrumento de diagnóstico.

Con respecto a los resultados de incidencia (Cuadro 2), se midió la dinámica del desarrollo del proceso de infección en tres periodos, con intervalos aproximados de 90 días, con excepción del primer periodo, hallándose una incidencia acumulada del 25% (27/108) para los 270 días de observación. Lamentablemente, no existen trabajos previos que midan la incidencia de esta infección en alpacas; por lo que se especulará con base a lo que ocurre con otras especies.

En Uruguay, en una evaluación con la prueba de aglutinación directa en 1,613 borregas de antes y después de preñez, encontraron una incidencia de 9.8% (Freyre *et al.*, 1997). Resultado inferior al nuestro, debido probablemente al tiempo de evaluación, ya que en alpacas fue a de 9 meses, mientras que el período de evaluación en los ovinos fue más corto y que su periodo de gestación aproximado es de 5 meses (Aliaga, 2006). También, se debería a la técnica de evaluación serológica utilizada y a otros factores de riesgo en CIDCS-Lachocc como la humedad, suelo, clima y presencia de felinos domésticos y silvestres.

En cuanto a la incidencia de *T. gondii*, es necesario señalar que a partir del primer periodo del estudio, parece que ocurrió una hiperendemia; es decir, una ligera frecuencia elevada de la enfermedad (Wayne *et al.*, 1997). Esto fue debido probablemente al estrés producido por traslados continuos de las alpacas, para obtener muestras de suero a zonas bajas que ofrecían instalaciones adecuadas, para la toma de muestras y en donde la presencia de gatos fue más común por la cercanía al centro poblado de Lachocc. Sumado a ello, el estrés de parición y empadre, las condiciones medio ambientales benignas para el desarrollo de *T. gondii* en CIDCS-Lachocc y la primoinfección de las alpacas a la exposición natural durante el estudio.

Los resultados de incidencia acumulada se pueden comparar con estudios de toxoplasmosis, en otras especies que se presentan en periodos de varios años. En ovinos, en Nueva Zelandia entre 1975 y 1980 se tuvo una incidencia variable de un año a otro entre 5% y un 20% en infecciones por toxoplasma (Luzon *et al.*, 1997).

Dentro de los factores de riesgo más importantes que podrían explicar la incidencia, se hallaría la presencia del parásito en la zona de estudio, el número y variedad de hospederos definitivos y la posible existencia de cepas más virulentas de *T. gondii* (Tenter *et al.*, 2000). Al respecto, estas cepas tienen fuerte acción patógena en animales, mientras que las cepas de escasa virulencia producen baja parasitemia y menor invasión tisular (Soulsby, 1987).

La dosis infectante de ooquistes en las praderas de pastoreo, en el caso de ovinos, sólo es suficiente la ingestión de 75 ooquistes de *T. gondii* para inducir infección y aborto (Blewett *et al.*, 1982). Se estima que en 50 gramos de heces procedentes de gatos infectados pueden contener alrededor de 10 millones de ooquistes o encontrar concentraciones superiores de 100,000 ooquistes por gramo de heces (Dubey y Frenkel *et al.*, 1972; Dubey, 2001), lo que hace suponer que ése solo gramo de heces de gato alcanzaría para infectar a 1,333 alpacas de las zonas alto andinas del Perú.

Entre los factores del hospedero, en este caso la alpaca, se debería a la probable elevada receptividad natural a la infección por *T. gondii*, la posible respuesta inmunitaria disminuida debido al estrés producido por la parición y empadre casi simultáneo (Novoa, 1991; Sumar, 2002). Sumándose a ello, los periodos amplios de lactación y gestación durante toda la edad reproductiva de la alpaca, la cual se halla entre 2 a más de 7 años. Adicional a nuestro estudio, se evidenció que la primera infección ocurre a cualquier edad (Anexo 4), muy similar a lo que ocurre en ovinos donde las ovejas jóvenes y adultos son igualmente receptivas a *T. gondii*, siempre que se trate de una primo infección (Luzon *et. al.*, 1997).

Dentro de los factores medio ambientales, se consideran que los ooquistes esporulados son resistentes a las condiciones ambientales ordinarias y pueden sobrevivir bajo condiciones de humedad y bajas temperatura por meses y aun años (Dubey *et al.*, 1970; Frenkel *et. al.*, 1975). Los ooquistes esporulados no se alteran a temperaturas de 10, 15, 20, y 25 °C., durante 200 días y a -5, -10 °C, tampoco lo varían en el curso de 186 días, manteniendo su

capacidad infectante (Dubey, 1998). Sin embargo, estos mueren en 1 minuto cuando son sometidos a temperaturas de 55 a 60 °C., (Dubey, 1998; Dubey y Lappin, 2000).

La esporulación de los ooquistes ocurre rápidamente a las 24 horas cuando la temperatura es de 25 °C; en 5 días, cuando la temperatura es de 15 °C; y en 21 días si la temperatura es de 11°C; luego de la cual se convierte en infectiva. Pueden permanecer viables a 4 °C, por más de 54 meses y volver a ser infecciosos cuando recuperan las condiciones adecuadas de temperatura (Lindsay *et al.*, 1997).

El ecosistema de la puna de CIDCS-Lachocc presenta condiciones ecológicas favorables para que los ooquistes puedan sobrevivir y esporular en condiciones adecuadas, como, precipitación total anual de 990.91 mm. (SENAMI, 2005) que facilita cantidad suficiente de agua y humedad (Urbina y Barreda, 2000) y temperatura que oscila durante el año entre 23 °C y -4 °C (SENAMI, 2005).

Los factores de manejo y producción de alpacas que influenciarían en la epidemiología de la toxoplasmosis serían los sistemas ganaderos, que comprende el pastoreo de alpacas, llamas, ovinos, vacunos y porcinos (Carpio, 1991). El pastoreo en periodos de estiaje de junio hasta agosto, en que los pastos naturales son de menor longitud, obliga a las alpacas pastar al ras del suelo; este último es un medio de infección importante para ovinos (Luzon *et al.*, 1997) y niños que juegan en él (Frenkel, 1993) y al elevado número de perros que poseen los pastores de alpacas del CIDCS - Lachocc constituye un medio y/o mecanismo de la transmisión mecánica de toxoplasma en humanos y animales (Frenkel *et al.*, 1995).

Con relación a los resultados del estado reproductivo (Cuadro 3), se evalúa la fertilidad; el cual es definido como el inicio de la preñez, viene marcado por la implantación del blastocisto y la formación de un cigoto viable (Blood y Studdert, 1993). Durante la campaña reproductiva 1999-2000 del CIDCS-Lachocc, se encontró el 70.37% (76/108) de fertilidad y de ésta, el

27.63% (21/76) presentó infección por *T. gondii* y el 72.36% (55/76) se encontraban libres de este protozooario. Por otro lado, el 29.63% (32/108) de alpacas no llegó a concebir. Al análisis estadístico de Chi cuadrado, no existió diferencia significativa ($p>0.05$) entre los animales fértiles y su seroconversión, indicando que la tasa de fertilidad fue independiente de la infección por *T. gondii*.

Para contrastar nuestros resultados de fertilidad con otros estudios, se puede decir, que están dentro de lo reportado. Gamarra *et al.* (1985), trabajando en la SAIS Túpac Amaru, en una campaña reproductiva, logró la fertilidad de 64.07% para alpacas de color blanco y 74.77% para alpacas de color. De igual manera, en Puno, Melo (1996) informó 67.31% de fertilidad. Estos resultados de fertilidad similares a nuestro estudio, se deberían al tipo de “empadre alterno o rotatorio”, utilizado en la campaña reproductiva de alpacas en Puno y Junín.

De mismo modo, Apaza *et al.* (1998), al evaluar fertilidad en empadre controlado, mediante comportamiento sexual de receptividad o rechazo post cópula, encontraron el 87.5%, 85.0% y 93.9% de fertilidad en hembras primerizas, madres sin cría y con cría respectivamente. Apaza y Huanca (1999), con la finalidad de evaluar la influencia de tres periodos de empadre de diciembre, enero y marzo; en 530 alpacas hembras, mediante empadre controlado; lograron una fertilidad de 84%, 88% y 89.8%, respectivamente. Otro trabajo parecido, realizado en Huancayo por Requena, *et al.* (1999), utilizando 15 alpacas por periodo, en enero, febrero y marzo obtuvieron 93.3%, 93.3%, y 86.6% de fertilidad, respectivamente. Los resultados de fertilidad, de los tres últimos trabajos de investigación, son superiores a lo reportado en Huancavelica y esto podría deberse al número de muestras empleadas para la evaluación. Así como, por haber empleado el empadre controlado durante las investigaciones y a los periodos de ejecución de empadre.

El 29.63% (32/108) de alpacas de nuestro trabajo de investigación no quedaron preñadas y esto podría atribuirse a la pérdida embrionaria dentro de los primeros 30 días post apareamiento; tal como indica Melo (1996), quien en

alpacas primerizas y multíparas de gestación aparente, desde el día 3 al 90 post monta, reporta el 33% de mortalidad embrionaria para ambos grupos. Fernández Baca (1971) y Novoa (1986, 1991) comprobaron que de los 80% de alpacas fertilizadas solamente el 50 % de los óvulos fertilizados sobrevivieron más de 30 días de la gestación. En nuestro trabajo, a los 90 días de post empadre se ha reportado la presencia de infección por *T. gondii* en un 18.75% (6/32), en alpacas que no llegaron a fertilizar; sin embargo, dado el bajo número de animales afectados no es posible asociar con la mortalidad embrionaria de las alpacas evaluadas.

Aunque no se ha determinado los factores causantes de las altas tasas de pérdidas embrionarias; estas probablemente se encuentren sujetas a factores ambientales adversos: el difícil ambiente natural, escasez estacional de alimentos en calidad y cantidad; presencia de enfermedades infecciosas y parasitarias, y alto grado de consanguinidad (Sumar, 1997, Sumar, 2002). Los cambios hormonales observados en alpacas y llamas señalan un aumento de niveles séricos de estradiol 17 β y un descenso temporal de progesterona entre los días 9 y 11 post ovulación, para luego de este periodo volver a niveles de progesterona elevados para mantener la gestación (Aba *et al.*, 1995). Lamentablemente debido a problemas logísticos (disponibilidad de Kits), no se pudo realizar el seguimiento inicial de la concepción mediante RIA de alpacas gestantes para observar las pérdidas embrionarias.

Los resultados de abortos (Cuadro 4) mostradas en alpacas infectadas naturalmente por *T. gondii* y diagnosticadas mediante ecógrafo entre los 90–180 y 181-270 días de gestación, fueron de 9.52% (2/21) y 15.79% (3/19), respectivamente; siendo estos valores ligeramente mayores a los presentados por alpacas seronegativas a *T. gondii*, las que muestran abortos de 5.45% (3/55) y 1.92% (1/52); mientras que los abortos diagnosticados mediante la prueba de balotaje en alpacas seropositivos a *T. gondii* a los 271-330 días, fueron de 12.50% (2/16), y los animales seronegativos a *T. gondii* presentaban una tasa de aborto del 5.88% (3/51). En cambio para los mismos periodos, la tasa de aborto general fue 6.58% (5/76), 5.63% (4/71) y 7.46% (5/67), respectivamente. A la prueba estadística de Fischer, no existe diferencia

significativa, estimando que las pérdidas fetales es independiente a la infección por *T. gondii*.

Este aparente elevado porcentaje de abortos en animales seropositivos se debería en parte, al escaso número de animales analizados. Al respecto Quintanilla (1999), declara que lo normal es que la causa del aborto sea multifactorial, que podrían ser de origen no infeccioso como genéticas, fallas nutricionales, plantas tóxicas, deficiencias de minerales (I, Mn, Se) y deficiencias en manejo. Las de origen infeccioso pueden ser virales (diarrea viral bovino, legua azul), bacterianos (brucelosis, salmonella, leptospira, listeria), hongos (aspergillus) y parasitarias (Toxoplasma, neosporosis, trichomoniasis, sarcocystis), contribuyendo de esta manera varios elementos a la muerte del feto y a su expulsión (Rivera, 2001).

Se desconoce la proporción de abortos por agentes infecciosos en camélidos domésticos (Sumar 2002). Para confrontar nuestro estudio, hemos recopilado la escasa información de abortos reportados. En Estados Unidos, se presentaron dos casos de aborto en llamas por toxoplasmosis (Cheney y Allen, 1987 – citado en Leguía y Casas, 1999). En la evaluación clínica y serológica de dos llamas, una infectada con 1,000 ooquistes y la otra naturalmente infectada durante la preñez; al término de la gestación, no presentaron manifestaciones clínicas ni abortos (Jarvinen *et. al.*, 1998). En ovinos, Blewett *et al.* (1982) reportan 26.67% (4/15) de abortos en ovejas primerizas infectadas con ooquistes de *T. gondii*. Estos resultados contradictorios con nuestro trabajo de investigación, estarían explicados por Atias y Thiermann (1997), quienes afirman que la evolución de la toxoplasmosis no es uniforme ni constante en las diversas especies de animales, ni la enfermedad es similar en todos los individuos de una misma especie.

En Puno, se realizaron evaluaciones en alpacas, casos de aborto y se halló una frecuencia de 3.33% cuyas causas no fueron diagnosticados (Melo, 1997). En una empresa ganadera de Puno, durante 7 años se reportaron 1.2% de abortos en alpacas con rangos de 0.3 – 5.2%, mientras que otra empresa del departamento de Junín en 6 años reportaron 2.2% de abortos con rango de

0.5 – 4% (Ameguiño y DeMartini, 1991) por diferentes causas. La controversia de estos resultados con los nuestros, se debería probablemente a una mejor observación realizada en nuestros animales y al menor número de animales evaluados que los reportados anteriormente.

En el Perú, las elevadas tasas de mortalidad por causas infecciosas, principalmente en crías, constituye un factor limitante en la crianza de alpacas (Ramírez, 1991). La toxoplasmosis también es responsable de la mortalidad perinatal (Ameguiño y DeMartini, 1991). En nuestro estudio (Cuadro 5), la tasa de mortalidad perinatal para seropositivos fue 21.43% (3/14), la tasa de mortalidad perinatal para seronegativos fue 4.17% (2/48), siendo la tasa total de mortalidad perinatal de 8.06% (5/62). Al análisis estadístico, no existió diferencia significativa, estimando que la tasa de mortalidad perinatal es independiente de la infección por *T. gondii*.

No hay información disponible sobre mortalidad perinatal en alpacas seropositivos a *T. gondii*, pero contrastando con ovinos, en una hacienda de South Dakota State University se reportó el 70% (56/80) de borregas positivas a *T. gondii*, de los cuales 20% (30/144) de corderos nacieron muertos y el resto nacieron vivos, donde el 40.3% (68/144) tenían evidencias de infección por *T. gondii* (Dubey y Kirkbride, 1989). En rebaños grandes del oeste de los EE.UU. con prevalencia del 20.8% a *T. gondii* en borregas preñadas, la mortalidad neonatal de corderos nacidos de borregas seropositivos fue 30.7%, el cual fue significativamente mayor para borregas seronegativas (13.6%) (Huffman *et. al.*, 1981). Lamentablemente, no podemos comparar estos resultados con los nuestros por ser otra especie animal y donde se evaluó un gran número de animales y diferentes condiciones de manejo.

La escasa información sobre mortalidad perinatal por diferentes causas en crías de alpacas, ha sido expuesta por Ameguiño (1991), quien observó crías de alpacas de 30 días de nacidas, perteneciente a dos empresas de Puno y dos de Junín mortalidad neonatal general de 10.0%, 29.9%, 7.9% y 7.5%, respectivamente. Sin embargo, de esta información es importante discernir la mortalidad perinatal, en el que están consideradas las crías nacidas muertas,

nacidas débiles (muerta al nacer), muertas por hipotermia, muertas por inanición, que llegan a 33.5%, 35.0%, 46.6% y 60.5%, para las empresas anunciadas.

De igual modo, la mortalidad neonatal reportada en productores de comunidades campesinas del altiplano, varió de 12.6% a 35.5% para medianos productores y de 14% a 30% para pequeños productores (Leyva, 1987, citado por Ramírez, 1991). En el Cusco, las causas de mortalidad perinatal de 434 alpacas hembras, fueron por inanición 23.1%, hipotermia 19.2%, nacidos muertos 15.4%, partos distócicos 11.5% (Puma, *et al.*, 1999). La controversia con nuestro estudio se debe a que nuestros resultados fueron calculados sobre las alpacas seropositivas a *T. gondii* y la información compilada fueron resultados de tamaños de muestras grandes y por causas específicas de mortalidad perinatal en general. Por otro lado, no hay que descartar la presencia de *T. gondii* en lo reportado por los autores mencionados; por lo que se requiere realizar mayores estudios al respecto en comunidades campesinas.

Para explicar la patología de las causas de mortalidad perinatal, se mencionan muerte por infecciones intrauterinas e hipoxia. La muerte por infecciones intrauterinas se debería a agentes bacterianos, virales, hongos y protozoarios (Ramírez, 1991; Ameguino, 1991; Ameguino y DeMartini, 1991; Rivera *et al.*, 1990). La muerte por anoxia está dado como ejemplo por la patología de toxoplasmosis ovina y caprina.

Los investigadores, Rhyon y Dubey (1984); Dubey (1988b); Dubey y Kirkbride (1989) mencionan que el feto y crías débiles pueden morir como consecuencia de graves lesiones que origina la colonización y multiplicación afectando la transferencia de oxígeno al feto, lo que ocasiona lesiones cerebrales. Al respecto Barberan y Marco (1997) afirman que algunos casos la anoxia fetal se verían agravados por la acción de sustancias tóxicas liberadas en la destrucción de la placenta, graves lesiones placentarias puede alterar el equilibrio hormonal necesario para el mantenimiento de la gestación, favoreciendo el aborto.

Diagnóstico diferencial para descartar otras enfermedades parasitarias productoras de infertilidad en camélidos son escasos, Serrano (2005) reporta 38% (19/50) de presencia de *Neospora caninum* en fetos abortados de alpacas y llamas en el sur y centro del Perú, mediante inmunohistoquímica, PCR e Histopatología, sin embargo no encuentra *T. gondii* en dichas muestras.

Los modelos de ecuación de estimación generalizada (GEEs) fueron desarrollados para extender los modelos lineales generalizados para acomodar datos correlacionados y es ampliamente utilizado por investigadores en diferentes campos (Horton y Lipsitz, 1999). De acuerdo al modelo de ecuación de estimación generalizada (Cuadro 6), se asumió que la infección por *T. gondii* no influye en abortos de alpacas seropositivas y seronegativas, aun cuando se ajusta con edad, tipo y periodo de gestación. Pero, cuando se analizó el Odds Ratio obtenido (3.3), asumiendo la infección como factor de riesgo, se estimó que la probabilidad de tener un aborto en el grupo de alpaca seropositivas es de 3.3 veces más que la probabilidad que en una alpaca seronegativa. Este estimado se debería al bajo número de animales evaluados por el cohorte, pero no se podría afirmar que el *T. gondii* no estaría implicado en los problemas reproductivos de las alpacas hembras. Para esto, sería necesario realizar infecciones experimentales en diferentes momentos de gestación alpacas hembras y realizar diagnósticos diferenciales precisos en todos los casos de aborto y mortalidad perinatal de las alpacas.

Los efectos que producen las enfermedades pueden ser: directos como la morbilidad y mortalidad, e indirectos como los efectos sociales y políticos que ellos provocan (Urcelay, 2001). Sin embargo no se debe desdeñar el rol importante del *T. gondii* en la salud pública.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

No se halló asociación de la infección de *T. gondii* con abortos ocurridos en el 1er, 2do y 3er trimestre de gestación. Sin embargo se presentó una mayor incidencia de abortos en alpacas hembras seropositivas 9.52% (2/21), 15.79% (3/19) y 12.50% (2/16) que en seronegativas 5.45% (3/55), 1.92% (1/52) y 5.88% (3/51) a *T. gondii* para periodos de 90-180, 181-270 y 271-330 días, respectivamente.

Debido a la disminución de la población de alpacas durante el experimento, no se halló asociación de la infección de *T. gondii* con mortalidad perinatal. No obstante el porcentaje de mortalidad perinatal fue mayor en alpacas hembras seropositivas 21.43% (3/14) que en las seronegativas 4.17% (2/48) a *T. gondii*.

A pesar de que en el estudio no se encontró asociación estadística significativa, se comprueba la prevalencia relativamente elevada de *T. gondii* en alpacas preñadas y se estima tendencias al aborto y mortalidad perinatal. Sería recomendable repetir el estudio con una mayor población de alpacas y continuar las investigaciones con infecciones experimentales en diferentes momentos de la gestación de alpacas hembras.

VII. BIBLIOGRAFÍA.

1. ABA, M.; M. FORSBERG; H. KINDAHL; J. SUMAR; L. EDQVIST. 1995. Endocrine changes alter mating in pregnant and no-pregnant llamas y alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36:489-498.
2. ACHA, P.; B. SZYFRES. 1992. Toxoplasmosis. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da ed. p 646-657. Ed. OPS. Agosto. Washington, USA.
3. ALIAGA, J. 2006. Reproducción ovina. En: Producción de ovinos. 1ra ed. p 255-296. UNA-La Molina. Lima, Perú.
4. ALVAREZ,V.; E. THIERMANN; G. NIEDMAN. 1963. Toxoplasmosis canina. *Zoiatria* 4: 3-4.
5. AMATO NETO, V.; E. MEDEIROS; G. LEVI; M. DUARTE. 1995. Toxoplasmosis. 2da ed. p 154. Ed. Sarvier. Sao Paulo, Brazil.
6. AMEGUINO, E. 1991. Causas de mortalidad en crías de alpaca. En: Novoa, C. y Flores A. (eds). Producción de rumiantes menores: ALPACAS. Editorial MARTEGRAFI. p 149-200. Lima, Perú.
7. AMEGUINO, E.; J. DeMARTINI. 1991. Mortalidad en crías de alpacas. p 01 - 121. IVITA-PCAIRM. Lima, Perú.
8. AMEGUINO, E.; S. RIVERA.; J. ZAFERSON.; N. VELARDE.; E. CHÁVEZ.; J. ARROYO; J. DeMARTINI. 1991. El aspecto sanitario en alpacas y ovinos de las comunidades del departamento de Puno. Anales de la V Conv. Inter. sobre Camélidos Sudamericanos. p. 142. Cuzco, Perú.

9. ANDRESSEN, H. 1999. Neosporosis en el Peru y el mundo. *Rev. Cien. Vet.* 15: 11-31.
10. APAZA N.; U. OLARTE; J. MÁLAGA. 1998. Empadre controlado de alpacas huacaya en el banco de germoplasma de la E.E. ILLPA-INIA. PUNO. Resúmenes del XXI Reunión Científica Anual-APPA. p 162-166. Puno, Perú.
11. APAZA, N.; T. HUANCA. 1999. Influencia de la época de empadre en alpacas sobre la mortalidad de crías en condiciones de puna seca. Libro de Resúmenes II Congreso Mundial de sobre Camélidos. p 98. Cuzco, Perú.
12. ARAUJO, F.G.; T. LIN.; J. S. REMINGTON. 1993. The activity of atovaquone (566C80) in murine toxoplasmosis is markedly augmented when used in combination with pyrimethamine or sulfadiazine. *J. Infect. Dis.* 167:494-497.
13. ARAMINE, J.J.; C. STEPHEN; J.P. DUBEY; C. ENGELSTOFT; H. SCHWANTJE; C.S. RIBBLE. 1999. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol. Infect.* 122:305-315.
14. ARTHUR, G.H.; D.E. NOAKES; H. PEARSON. 1991. Reproducción y Obstetricia Veterinaria. 6ta. ed. p 499-500. Ed. Limusa. México.
15. ATIAS, A.; E. THIERMANN. 1997. Toxoplasmosis. En: Parasitología médica. Vol I, Cap. 31, Ed. A. Atias., 4ª ed., p 269-282. Publicaciones Mediterráneo. Santiago de Chile.
16. BEAMAN, R.T.; R.E. MCCABE; J.S. REMINGTON. 1995. *Toxoplasma gondii*. En: Mandell, G.L.; Douglas, E.R.; Bennet, J.E. (eds). Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. p. 2455-2475. Churchill Livingstone. New Cork.
17. BANKS, K.L.; T.C. McGUIRE. 1989. Inmunología neonatal. En: Inmunología clínica veterinaria. Halliwell, R.E.W.; N.T. Goman (eds). p 205-217. Ed. Acribia. España.
18. BARRIGA, O. 1997. Inmunología de las infecciones parasitarias. En: Parasitología Médica. Atias, A. (ed). p 67-101. Ed. Mediterraneo. Santiago, Chile.
19. BEVERLEY, J.K.; W.A. WATSON; J.M. PAYNE. 1971. The pathology of the placenta in ovine abortion due to toxoplasmosis. *Vet. Rec.* 88:124-128.
20. BARBERAN, M.; J.C. MARCO. 1997. Patogenia, cuadro clínico y lesional. En: Toxoplasmosis – Neosporosis. Aula Veterinaria/OVIS. Setiembre (52) 35-48.

21. BENENSON, N.W.; E.T. TAKAFUJ; S.M. LEMON; R.L. GREENUP; A.J. SULZER.1982. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestión of contaminated water. *The New England Journal of Medicine* 307:666-669.
22. BRINKMANN, V.; J. REMINGTON; S. SHARMA. 1987. Protective immunity in Toxoplasmosis: Correlation between antibody response, brain cyst formation, T-cell- activation, and survival in normal and B-cell-deficient mice bearing the H-2^K haplotipe. *Infeccion and Immunity*. 15(4):990-994.
23. BLEWETT, D.A.; C.E. BRYSON; J.K. MILLER. 1983. Studies of antibody titres in experimentally induced ovine toxoplasmosis. *Res. Vet. Sci.* 34:163-166.
24. BLEWETT, D.A.; J.K. MILLER; D. BUXTON. 1982. Response of inmune and susceptible ewes to infection with *Toxoplasma gondii*. *Vet. Rec.* 111(9):175-177.
25. BLOOD, D.; O. RADOSTITS. 1992. Toxoplasmosis. En: Medicina veterinaria. 7^a ed. p 1082-1087. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México.
26. BLOOD, D.; V. STUDDERT. 1993. Diccionario de veterinaria. Ed. McGraw-Hill. España.
27. BOTERO, D.; M. RESTREPO. 2003. Parasitosis humana. 4^a ed. p 262-280. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.
28. BONAMETTI, A.M.; J. PASSOS; E:M. KOGA; A.L. BORTOLIERO. 1997. Surto de toxoplasmose aguda transmitida a traves da ingestao de carne crua de gado ovino. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 30(1).
29. BOHNE, W.; J. HEESEMANN; U. GROSS. 1993. Induction of bradyzoite-specific *Toxoplasma gondii* antigens in gamma interferon – treated mouse macrophages. *Infect. Inmun.* 61:1141-1145.
30. BUXTON, D. 1990. Ovine toxoplasmosis: a review. *J. Royal Soc. Medicine* 83:509.
31. BUXTON, D. 1993. Toxoplasmosis: the first comercial vaccine. *Parasitol. Today.* 9:335-337.
32. BUXTON, D.; K.M. THOMSOM; S. MALEY. 1993. Treatment of ovine toxoplasmosis with a combination of sulphametazine and pyrimethamine. *Vet. Rec.* 132:409-411.
33. BUXTON, D.; J.S. GILMOUR; K.W. ANGUS; D.A. BLEWETT; L.K. MILLER. 1982. Perinatal changes in lambs infected with *Toxoplasma gondii*. *Res. Vet. Sci.* 32(2):170-176.

34. BURG, J.L.; C.M. GROVER; P. POLETTY; J.C. BOOTHROYD. 1989. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J. Clinical Microbiol.* 27:1787-1792.
35. BONILLA, G. 1991. Métodos prácticos de inferencia estadística. 2da ed. p 9-23. Ed. Trillas. México.
36. BRACK, A. 1977. El ambiente en que vivimos. 2da. Ed. p 11-17. Ed. Salesiano. Lima, Perú.
37. BUSTAMANTE, J.; F. SUAREZ. 2000. Estudio comparativo de frecuencias de toxoplasmosis en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada. *Rev. Inv. Vet. Perú* 11:32-39.
38. CARPIO, M. 1991. Camélidos y socio-economía andina. En: Producción de rumiantes menores: Alpacas. Novoa C.; Flores (eds). RERUMEN. p 3-17. Lima, Perú.
39. CORDERO DEL CAMPILLO, M. 1973. Sobre la epidemiología de la toxoplasmosis. *Revista Iberica de Parasitología* 33:347-406.
40. CORDERO DEL CAMPILLO, M.; F. ROJO; A. MARTINEZ; M. SANCHEZ; S. HERNANDEZ; I. NAVARRETE; P. DIEZ; H. QUIROZ; M. CARVALHO. 1999. Parasitología Veterinaria. p 665-672. Ed. Mc Graw-Hill. España.
41. CONTRERAS, O.; A. TEJADA. 1974. Estudio Serologico sobre Toxoplasmosis en ganado ovino beneficiado en Lima, Perú. *Rev. Per. Biol.* 1(2):147-153.
42. CLUMECK, N. 1991. Some aspects of the epidemiology of toxoplasmosis and pneumocystosis in AIDS in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 10: 177-178.
43. CONLEY, R.A.; K.A. JENKINS; J.S. REMINGTON. 1981. *Toxoplasma gondii* infection of the central nervous system: use of the peroxidase anti-peroxidase method to demonstrate *Toxoplasma* in formalin fixed, paraffin embedded tissue section. *Human. Pathol.* 12:690-698.
44. CHANG, K. 2005. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas hembras de la SAIS Pachacutec. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria-UNMSM. Lima. 61 p.
45. CHARLESTON, W.A. 1994. *Toxoplasma* and other protozoan infection of economic importance in new zealand. *N.Z.J. Zool.* 21:76-81.
46. CHÁVEZ, A.; L. REYES; M. CHINCHILLA. 1998. Aislamiento de *Toxoplasma gondii* en carne de cerdo. Confirmación de una hipótesis. *Sociedad Chilena de Parasitología* 22:3-4.

47. DANIEL, W. W. 2004. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. ed. p 571 - 657. Ed. LIMUSA. México.
48. DESMONTS, G.; J. REMINGTON. 1980. Direct agglutination test for diagnosis of *toxoplasma gondii* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. *J. Clinic. Microbiology* 68(6):562-568.
49. DICCIONARIO MEDICO DE BOLSILLO DORLAND. 2003. 24^a ed. Interamericana-Mcgraw-Hill. p 882. Madrid – España.
50. DOMZIG, W.; J. SEGUELA; H. BINZ. 1993. A method to obtain large quantities of *Toxoplasma gondii* tachyzoites with extreme purity. *J. Parasitol.* 79(4):613-615.
51. DOUGLAS, W.; D. DRESSEN; D. PRICKETT; J. BLUE; D. OLIVER. 1984. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of toxoplasmosis in Swine: Interpreting assay result and comparing with other serologic tests. *Am. J. Vet. Res.* 45(9):1719-1725.
52. DUBEY, J.P. 1985. Serologic prevalence of toxoplasmosis in cattle, sheep, goats, pigs, bison and elk in montana. *J. Am. Vet. M. A.* 186(9): 969-970.
53. DUBEY, J.P. 1986. A review of toxoplasmosis in cattle. *Vet. Parasitol.* 22:177-202.
54. DUBEY, J.P. 1988a. Lesions in transplacentally induced toxoplasmosis in goats. *J Vet Res.* 49:905-909.
55. DUBEY, J.P. 1988b. Long term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cyst in pork. *Am. J. Vet. Res.* 49: 910-913.
56. DUBEY, J.P. 1989. Toxoplasmosis in sheep and goats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 194(12):
57. DUBEY, J.P. 1993. *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidia of man and animals, *parasitic protozoa*. 2nd ed. p 1-158. Krejer, JP. Academic Press. New York.
58. DUBEY, J.P. 1994. Toxoplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 205: 1593-1598.
59. DUBEY, J.P. 1996. Pathology and pathogénesis of toxoplasmosis of man and animals with especial emphasis on cats. *EMOP VII Abstracts. Parasitología* 38:456.
60. DUBEY, J.P. 1998. *Toxoplasma gondii* survival under defined temperatures. *J. Parasitol.* 84: 862-865.

61. DUBEY, J.P. 2001. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. *J. Parasitol.* 87: 215-219.
62. DUBEY, J.P. 2004. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. *Vet. Parasitol.* 126: 57-72.
63. DUBEY, J.P.; N.L. MILLAR; K.L. FRENKEL. 1970. The *Toxoplasma gondii* oocysts from cat faeces. *J. Exp. Med.* 132: 636-662.
64. DUBEY, J.P.; J.K. FRENKEL. 1972. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool.* 19: 155-157.
65. DUBEY, J.P.; J.K. FRENKEL. 1976. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and development of *Toxoplasma* cyst. *J Protozool.* 23: 537-546.
66. DUBEY, J.P.; C.A. KIRKBRIDE. 1984. Epizootics of ovine due to *Toxoplasma gondii* in north central United States. *J. Am. Med. Assoc.* 184 (6):657-660.
67. DUBEY, J.P.; F.L. WELCOME. 1988. *Toxoplasma gondii*-induced abortion in sheep. *J. Am. Med. Assoc.* 193: 697-699.
68. DUBEY, J.P.; C.P. BEATTIE. 1988. Toxoplasmosis of animals and man. *CRC press Inc. Boca Raton, p 220 Florida.*
69. DUBEY, J.P.; C.A. KIRKBRIDE. 1989. Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. *J. Am. Med. Assoc.* 195 (12):1715-1716.
70. DUBEY, J.P.; L.G. RICHARD; G.L. ZIMMERMAN; D.M. MULROONEY. 1992. Seroprevalence of *T. gondii* in llamas (*Lama glama*) in the northwest USA. *Vet. Parasitol.* 44:295-298.
71. DUBEY, J.P.; P.H. THULLIEZ. 1993. Persistence of tissue cysts in edible tissue of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J. Vet. Res.* 54:270-273.
72. DUBEY, J.P.; J. CARPENTER. 1993. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in Cats: 100 cases (1952-1990). *J. Am Vet. M. A.* 196 (2): 257-259.
73. DUBEY, J.P.; P. THULLIEZ; R. WEIGEL; C. ANDREWS; P. LIND; E. POWELL. 1995. Sensitivity and specificity of various serologic test for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am J. Vet. Res.* 56(8):1030-1036.
74. DUBEY, J.P.; C.A. SPEER; S.K. SHEN; O.C.H. KWOK; J.A. BLIXT. 1997. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenesis, and

- stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J. Parasitol.* 83:870-882.
75. DUBEY, J.P.; D.S. LINDSAY; C.A. SPEER. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Reviews* 11(2): 267-299.
 76. DUBEY, J.P.; M.R. LAPPIN. 2000. Toxoplasmosis y Neosporosis. En: Enfermedades infecciosas en Perros y Gatos. Green C.C. (ed). p 542-560 2da edicion. Mc Graw Hill Interamericana. México.
 77. DUBEY, J.P.; D.E. HILL; J.L. JONES; A.W. HIGHTOWER; E. KIRKLAND; J.M. ROBERTS; P.L. MARCET; T. LEHMANN; M.C. VIANNA; K. MISKA; C. SREEKUMAR; O. KWOK; S.K. SHEN; H.R. GABLE. 2005. Prevalencia of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat store in the United States: risk assessment to consumers. *Journal Parasitology* 91(5): 1082-1093.
 78. DUBREMETZ, J.P. 1996. Apical organelles and host cell invasion by Apicomplexa zoites. *Proceedings EU COST 820 Annual Workshops*, Copenhagen, Denmark: p 17-19.
 79. FERNÁNDEZ BACA, S. 1971. La alpaca: reproducción y crianza. *Bol. Div. N° 7. IVITA*. Perú. 43 p.
 80. FERGUSON, D.J.; J. HUSKINSON-MARCK; F.G. ARAUJO; J.S. REMINGTON. 1994. An ultrastructural study of the effect of treatment with atavaquone in brains of mice chronically infected with the M49 strain of *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Exp. Pathol.* 75:111-116.
 81. FRENKEL, J.K. 1986. La inmunidad en la toxoplasmosis. *Bol. Sanit. Panam.* 100(3):283-299.
 82. FRENKEL, J.K. 1993. Transmisión de la toxoplasmosis en Panamá. En: Libro de resúmenes del XI Congreso Latinoamericano y I congreso Peruano de parasitología, p. 37. Lima-Perú.
 83. FRENKEL, J.K.; J.P. DUBEY; N.L. MILLER. 1970. *Toxoplasma gondii* in cats: faecal stages identified as coccidian oocysts. *Science.* 167: 893-896.
 84. FRENKEL, J.K.; A. RUIZ; M. CHINCHILLA. 1975. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 24:439-443.
 85. FRENKEL, J.K.; D.S. LINDSAY; B.B. PARKER. 1995. El supuesto rol de perros en la transmisión mecánica de la toxoplasmosis. En: XII Congreso Latinoamericano de Parasitología – FLAP. 19:154. Santiago de Chile.

86. FLORES, A.J. 1991. La toxoplasmosis: consideraciones económicas, técnicas y sanitarias. Nuestra cabaña, N° 226 p 4-8; N° 227 p 4-9; N° 230 p 16-23.
87. FLOREZ, A.M. 1991. Ecología y sistemas de producción. En: Producción de rumiantes menores: Alpacas, Novoa C.; Flores (eds). RERUMEN. p. 18-27. Lima, Perú.
88. FREYRE, A.; J. FALCON. 1989. Toxoplasmosis. Universidad de la Republica. p 332. Montevideo, Uruguay.
89. FREYRE, A.; J. BONINO; J. FALCON; D. CASTELLS; O. CORREA; A. CASARETTO. 1997. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. *Vet. Parasitol.* 73(1-2): 13-15.
90. GAMARRA, M.; E. GALARZA; F. QUINTANA; P. CABRERA. 1985. Tasas de fertilidad, natalidad y mortalidad en alpacas. VIII Reunión Científica APPA. Libro de Resúmenes, F-18. Huancayo, Perú.
91. GAZZINELLI, R.; Y. XU; S. LLIENY; A. CHEVER ; A. SHER.1992. Simultaneous depletion of CD₄ + and CD₈ + T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 149: 175-180.
92. GARCIA, M.S.; A. CHAVEZ; E. CASAS; E. SERRANO; J. AVENDAÑO; B. CAMPOS; F. LOAYSA. 2002. Uveitis de etiología parasitaria en el instituto oftalmológico (INO) durante el periodo 1988-1989. V Congreso peruano de parasitología. APP-UNT. p 103. Trujillo, Perú.
93. GORMAN, T.; M. GARCIA; M. LORCA; 1991. Infección por *Toxoplasma gondii* y *Trichinella spiralis* en perros de la comuna de san bernardo, santiago. *Parasitologia al dia* 15(1-2): 49-51.
94. GORMAN, T.; J.P. ARANCIBIA; M. LORCA; D. HIRD; H. ALCAINO. 1999. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (Lama pacos) in Chile. *Prev. Vet. Med.* 40: 143-149.
95. GONGORA, M. 1992. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en las comunidades alpaqueras de: Vilcallamas, Bajo Llallagua, Huanacayama y Llusta. Tesis para optar el Título de Medico Veterinario y Zootecnista. UNA-PUNO. 47 p.
96. GÓMEZ, F.; A. CHAVEZ; E. CASAS; E. SERRANO; O. CARDENAS. 2003. Determinación de la seroprevalencia de la toxoplasmosis en alpacas y llamas en la estación experimental INIA-Puno. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 15:44-48.
97. GUERRERO, R.; C. GONZALES; E. MEDINA. 1986. Estudios de cohorte o prospectivos. En: Epidemiología. p 112-122. Ed. Addison Wesley Iberoamericana. Deleware, EUA.

98. POMA DE LA CRUZ, E. 2003. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en alpacas (*Lama pacos*) de la Unidad de producción de Cochas de la SAIS Tupac Amaru. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM. 58 p.
99. PUMA, G.; J. GARNICA; W. BRAVO. 1999. El tamaño de la placenta, la edad de la madre y la supervivencia perinatal de la cría alpaca. Resumen de II Congreso. mundial sobre camélidos. p 103. Cuzco, Perú.
100. HARTLEY, W.J.; S.C. MARSHALL. 1957. Toxoplasmosis as a causa of ovine perinatal mortality. *N.Z. Vet. J.* 5:117-124.
101. HAFEZ, B.; HAFEZ, E. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7^a. ed. Ed. Mc Graw Hill. México.
102. HERRERA, AA.; S. MEDINA. 1993. Serología en pacientes sospechosos de Toxoplasma. Instituto Nacional de Salud (1982-1992). Libro de resúmenes I Congreso Peruano de Parasitología. Lima, Perú.
103. HILALI, M.; A. FATANI; S. AL-ATIYA. 1995. Isolation of tissue cysts of *Toxoplasma*, *Isospora*, *Hammondia* and *Sarcocystis* from camel (*Camelus dromedarius*) meat in Saudi. *Vet. Parasitol.* 58(4): 353 – 356.
104. HILALI, M.; S. ROMAND; P. THULLIEZ; O. KWOK; J. DUBEY. 1998. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt. *Vet. Parasitol.* 75(2-3): 267-269.
105. HILL, D.; J.P. DUBEY. 2002. *Toxoplasma gondii*: Transmission, diagnosis y prevention. *Clin. Microbiol. Infect.* 8: 634-640.
106. HORTON, N. J.; S. R. LIPSITZ. 1999. Review of software to fit generalized estimating equation regression models. *The American Statistician*, 53: 160 – 169.
107. HOLLIMAN, R.E.; J.D. JOHNSON; D. SAVVA. 1990. Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in association with AIDS using the polymerase chain reaction. *Scand. J. Infect. Dis.* 22: 243-244.
108. HUFFMAN, E.M.; J.H. KIRK; L. WINWARD; J.R. GORHAM. 1981. Relationship of neonatal mortality in lambs to serologic status of the ewe for *Toxoplasma gondii*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178: 679-682.
109. HUMPHREY, J.G.; R.L. STEWART; J.P. DUBEY. 1995. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of hunter-killed white-tailed deer in Pennsylvania. *Am. J. Vet. Res.* 56: 172-173.
110. INEI. 2003. Almanaque estadístico de Huancavelica – 2003. Oficina Departamental de Estadística e Informática. p. 59-65. INEI. Lima.

111. JARVINEN, J.; J.P. DUBEY; C.G. ALTHOUSE. 1998. Clinical and serologic evaluation of two llamas (*Lama glama*) infected with *Toxoplasma gondii* during gestation. *J. Parasitol.* 85(1):142-144.
112. KLUN, I.; O. DJURKOVIC-DJOVIC; S. KATIC-RADIVOJEVIC; A. NIKOLIC. 2005. Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. *Vet. Parasitol.* 135: 121-131.
113. LAPPIN, M.; C. GREENE; A. PRESTWOOD. D. DAWE; R. TARLETON. 1989. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of circulating antigens of *Toxoplasma gondii* in the serum of cats. *Am. J. Vet. Res.*50(9): 1586-1590.
114. LANGONI, H.; A. Da SILVA; K. CABRAL; E. CUNHA; A. CUTOLO. 2001. Prevalencia de toxoplasmosis em gatos dos estados de Sao Paulo e Paraná. *Braz. J. Vet. Res. Ani. Sci.* 38(5): 234-243.
115. LEGUÍA, G. 1990. Toxoplasmosis en alpacas. Bol. Div. Nº 23 Pag. 41-42. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
116. LEGUÍA, G. 1991a. Enfermedades parasitarias. En: Producción de rumiantes menores: Alpacas. Novoa C.; Flores (eds). RERUMEN. p 201 – 241. Lima, Perú.
117. LEGUÍA, G. 1991b. Enfermedades Parasitarias. En: avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos Americanos,(Ed. Fernández Baca (ed). Oficina Regional de la FAO para América Latina y el caribe. Santiago, Chile.
118. LEGUÍA, G.; C. GUERRERO.1986. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en Borregas. 9na Reunión Científica-APPA. Lima.
119. LEGUÍA, G.; C. GUERRERO; P. DIONICIO. 1987. *Toxoplasma gondii* en borregas abortadas y con mortalidad de crías. *MV. Rev. Cien. Vet.* 3(1): 23-26.
120. LEGUÍA, P.G.; B.H. SAMAME; D.C.A. GUERRERO; C.M. ROJAS; L.A. NUNEZ. 1988. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en Alpacas. *Rev. Camélidos Sudamericanos*, 6:19-22.
121. LEGUÍA, G.; E. CASAS. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. p 31-34. Ed. Mar. Lima, Perú.
122. LINDSAY, D.S.; B.L. BLAGBURN; J.P. DUBEY. 1997. Feline toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* oocyst. *Parasitol.* 19(4): 448-461.
123. LUCAS, S.; M. HAGIWARA; A. RECHE; P. GERMANO. 1998. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em gatos infectados naturalmente pelo vírus

- da inmunodeficiencia dos felinos. *Braz. J. Vet. Rev. Ani. Sci.* Sao Paulo. 35(1): 41-45.
124. LUFT, B.J.; J.S. REMINGTON. 1989. Toxoplasmosis. En: *Infectious Diseases*. Hoeprich, P.D.; M.C. Jordan (eds). p 1199-1214. JB. Lippincott Company. Philadelphia.
 125. LUZON M.; G. MIRO; A. QUINTANILLA. 1997. Epidemiología. En: *Toxoplasmosis – Neosporosis*. p 19- 32. Ed. Lusan. Madrid, España.
 126. LLOP, A.; M.M. VALDEZ-DAPENA; J.L. ZUAZO. 2001. Microbiología y parasitología médica. Tomo III p 111-150. Ed. Ciencias Médicas. La Habana, Cuba.
 127. MARCAS G.; A. CHÁVEZ; E. CASAS; W. GARCIA; N. FALCON. 2004. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas de dos fundos ganaderos de la provincia de Melgar, Puno. *Rev. Investig. Vet.*15(1): 44-48.
 128. McALLISTER, M. 2005. A decade of discoveries in veterinary protozoology changes our concept of “subclinical” toxoplasmosis. *Vet. Parasitol.* 132: 241-247.
 129. MILLER, J.K., D.A. BLEWETT ; D. BUXTON. 1982. Clinical and serological response of pregnant gimmers to experimentally induced toxoplasmosis, *Vet. Rec.* 111: 124-126.
 130. MORILLA, A.; D. GONZALES-VEGA. 1998. Introducción al diagnóstico inmunológico de las enfermedades de los animales domésticos. Ed. INIFAP-SAGAR. p 68. México.
 131. MUNDAY, B.L.; J.P. DUBEY. 1986. Serological cross-reactivity between *Hammondia hammondi* and *Toxoplasma gondii* in experimentally inoculated sheep. *Australian Veterinary Journal* 63: 344-345.
 132. MUNDAY, B.L.; J.P. DUBEY. 1986a. Serology of experimental toxoplasmosis in pregnant ewes an their foetuses. *Australian Veterinary Journal* 63: 353-354.
 133. MELO, M. 1996. Influencia de la edad, el estado nutricional, la condición hormonal y el manejo de las alpacas sobre la sobre vivencia embrionaria. *Rev. Inves. CSA. Alpaka IIPC.* 5(2): 26-46.
 134. MELO, M. 1997. Sistemas de control y manejo sanitario de alpacas y llamas en la región andina del sur peruano. UNA. Puno, Perú. 123 p.
 135. MONTOYA, J.G.; O. LIESENFELD. 2004. Toxoplasmosis. *THE LANCET* 363: 1965-1976.
 136. MULLER, N.; V. ZINMERMANN; B. HENTRICH; B. GOTTSTEIN. 1996. Diagnosis of Neospora caninun and *Toxoplasma gondii* Infection by PCR

- and DNA Hybridization Immunoassay. *Journal of Clinical Microbiolog.* 34(11): 2850-2852.
137. MERCK & CO. 2000. El Manual Merck de veterinaria. 5ta ed. p 545-546; 113-117. Océano. Barcelona, España.
 138. NAQUIRA. C. 1989. Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de transmisión Alimentaria. Situación actual del estudio de la Toxoplasmosis en el Perú. Lima.
 139. NOVOA, C. 1986. Reproduction of llamas and alpacas. *Rev. Camélidos Sudamericanos (Perú)*,1: 37-46.
 140. NOVOA, C. 1991. Fisiología de la reproducción de la hembra. In. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Fernández-Baca (ed). p 91-107. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile.
 141. NOVOA, C.; J. SUMAR; V. LEYVA; S. FERNANDEZ BACA. 1973. Incremento reproductivo en alpacas de explotaciones comerciales mediante metodo de empadre alternado. *Rev. Inv. Pec. (IVITA)*. 2(2): 191-193.
 142. NURSE, G.H; C. LENGHAUS. 1986. An outbreak of *Toxoplasma gondii* abortion, mummification and perinatal death in goats. *Australian Veterinary Journal* 63(1): 27-29.
 143. OREJUELA, J.; M. DUQUE; A. GIRALDO. 1998. Toxoplasmosis congénita: Avances en Diagnostico y Tratamiento. Publicación de Laboratorio Rhone Poulec.
 144. O'DONOGHUE, P.J.; M.J. RILEY; J.F. CLARKE. 1987. Serological survey for toxoplasma infections in sheep. *Australian Veterinary Journal* 64: 40-45.
 145. OTEIZA, J.; J. CARMONA. 1993. Diccionario de zootecnia. 3ra. ed. Ed. Trillas. México.
 146. PANTOJA, A.; L. PEREZ. 2001. Reseña histórica acerca de las investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis. *Rev. Cubana Med. Trop.* 53 (2): 111-117.
 147. PAVIA, CH. 1987. Protection against experimental toxoplasmosis by adoptive immunotherapy. *J. Immunology*. 37(9): 2985-2990.
 148. PERRY, B.D.; J. MOGOLLON; A. GALVIS. 1979. Serological study of ovine toxoplasmosis in Colombia: Epidemiological study of a field outbreak. *Vet. Rec.* 104: 231-234.

149. PIZZI, H. 1997. Toxoplasmosis. Rhone Poulenc Rorer. Buenos Aires, Argentina. p 84.
150. QUINTANILLA, G.A. 1999. Aportaciones al conocimiento de la neosporosis y la toxoplasmosis en los rumiantes domésticos. Univ. De León, Facult. de Vet. Memoria para optar grado de Doctor. León-España. p. 285.
151. RAMÍREZ, A. 1991. Enfermedades Infecciosas. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos americanos. Fernández Baca (ed). Oficina Regional de la FAO para América Latina y el caribe. Santiago de Chile.
152. RAMÍREZ, A.; E. FRANCO; D PEZO; W. GARCÍA. 1998. Diagnostico y control de enfermedades en camélidos sudamericanos. *Púb. Téc. FMV N° 34*. p 01-87. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
153. RAMÍREZ J. 2005. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas de cuatro distritos de la provincia de Canchis-Cusco. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria-UNMSM. Lima. 61 p.
154. REQUENA, M.; F. CURI; J. RAYMONDI; M. CCARI. 1999. Época de empadre y su influencia en la producción de alpacas. Libro de Resúmenes II Congreso Mundial sobre Camélidos, p 99. Cuzco-Perú.
155. REMINGTON, J.S.; M.J. MILLER; I. BROWNLEE. 1968. IgM antibodies in acute toxoplasmosis: I. Diagnosis significance in congenital cases and a method for their rapid demonstration. *Pediatrics* 41: 1082-1091.
156. RIVERA, H. 2001. Etiología infecciosa de aborto bovino. *Rev. Inv. Vet. Peru*, Suplemento 1:95-99.
157. RIVERA, H.; B. MADEWELL.; E. AMEGUINO. 1990. Estudio serológico de anticuerpos virales en la alpaca. *Bol. Div.* 23: 32-40. Lima, Perú.
158. RHYAN, J.C.; J.P. DUBEY. 1984. Ovine abortion and neonatal death due to toxoplasmosis in montana. *J. Am. Med. Assoc.* 184(6): 661-664.
159. ROBERTS, T. 1989. The economic impact of toxoplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 194(12): 1784-1785.
160. ROBERTS, T.; J.K. FRENKEL. 1990. Estimating income losses and preventable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196: 249-256.
161. ROJAS, M. 1990. Parasitismo de los rumiantes domésticos. Terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. p 326-334. Lima, Perú.
162. ROJAS, M. 2004. Nosoparasitismo de los rumiantes domésticos peruanos. 2ª. Ed. p. 124-128. Lima, Perú.

163. ROJAS, M.; I. LOBATO; M. MONTALVO. 1989. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en camélidos sudamericanos. *Resum. 12ª Reunión Cient. Anu. Asoc. Peruana Prod. Anim.* p 97. Peru, Lima.
164. ROSADIO, R.; AMEGUINO, E. 1999. Enfermedades de los ovinos en el Perú. *Púb. Téc. FMV.* N° 40. p 01 – 76. Lima, Perú.
165. RUBINA, A; J. BARREDA. 2000. Atlas del departamento de Huancavelica. Buenaventura y DESCO (eds). p 23-31. Lima, Perú.
166. RUIZ, A.; M. CHINCHILLA; O. GUERRERO. 2005. Patología en pollos inoculados oralmente con diferentes concentraciones de ooquistes de *Toxoplasma gondii*. *Parasitol. Latinoam.* 60(1-2): 43-47.
167. SACKS, J.J.; R.R. ROBERTO; N.F. BROOKS; 1982. Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *J. Am. Med. Assoc.* 248: 1728-1732.
168. SERRANO, M. 2005. Identificación de *Neospora caninum* en abortos de camélidos sudamericanos domésticos. Tesis de de grado académico de Magíster en Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria-UNMSM. Lima. 95 p.
169. SARAIVIA M.; A CHÁVEZ; E. CASAS; N. FALCON; W. PINTO. 2004. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas de una empresa pecuaria en Melgar, Puno. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 15:49-55.
170. SANABRIA, H. 2003. Introducción a la epidemiología. Unidad de Post Grado-Facult. Med. San Fernando. UNMSM. p 20-35. Lima, Peru.
171. SAVVA, D.; J.C. MORRIS; J.D. JOHNSON; R.E. HOLLIMAN. 1990. Polymerase chain reaction for detection or *Toxoplasma gondii*. *J. Med. Microbiol.* 32: 25-31.
172. SENAMI. 2005. Estación meteorológica callqui-Huancavelica, registro de temperatura y precipitación pluvial. SENAMI. Lima.
173. SOULSBY, E.J. L. 1987. Parasitología y Enfermedades parasitarias. p 681-693. Ed. Interamericana. México.
174. SUÁREZ, F.; H. ANDRADE; A. GALISTEO. 1999. Evaluación serologica del *Toxoplasma gondii* en suinos mediante la prueba de ELISA. *Rev. Inv. Vet. Peru*; 10(1): 11-17.
175. SUÁREZ, F.; W. FLORES; A. CHAVEZ; H. RIVERA; W. HUANCA. 2004. Toxoplasmosis en la sierra alto andina. *Rev. Inv. Vet. Peru*; 15(2): 170-173.

176. SUMAR, J. 1997. Avances y perspectivas en reproducción de camélidos, Memorias del I Symposium internacional: Avances en reproducción de rumiantes. Asociación peruana de reproducción animal. Lima – Perú.
177. SUMAR, J. 2002. Llamas y alpacas. En: Reproducción e inseminación artificial en animales. Hafez, E.; Hafez, B. (eds). p 224-242. Ed. McGraw-Hill. México.
178. TEJADA, A.; G. BALBÍN. 1989. Situación actual de la Toxoplasmosis en el Perú. Anales del seminario nacional y enfermedades de transmisión alimentaria. Prog. Nac. de Cont. de zoonosis- MINSA. p 107-121. Lima, Perú.
179. TENTER, A.; A. HECKEROTH; L. WEISS. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Inter. J. Parasitol.* 30: 1217-1258.
180. TIZARD, I.R. 1998. Inmunología veterinaria. 5ta ed. p 338-354. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México.
181. THULLIEZ, P. 1996. Ciclo de *Toxoplasma gondii*. En: *Toxoplasmosis. BioMerieux (Ed)*. p 4-6. Madrid.
182. TORREY, E.F.; R.H. YOLKEN. 2003. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. *Emerg. Infect. Dis.* 9(11): 1375-1380.
183. URCELAY, S. 2001. Producción y economía en salud animal. *Rev. Inv. Vet. Perú*; Suplemento 1:52-25.
184. UGGLA, A.; L. SJOLAND; J.P. DUBEY. 1987. Immunohistochemical diagnosis of Toxoplasmosis in fetuses and fetal membranes of sheep. *Am. J. Vet. Res.* 48: 113-119.
185. VELÁSQUEZ, V.C; M.C. NOVOA. 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *Rev. Inv. Vet. Peru*; 10(1): 39-47.
186. VENTURINI, M.M. CASTELLANO; D. BACIGALUPE; G. OLIVA; J. UNZAGA; M. RISSO; D. ARIAS; C. Di LORENZO; L. VENTURINI. 1997a. Coinfección con *Toxoplasma gondii* y Virus de la inmunodeficiencia Felina (FIV). *Parsitol al día* 21(1): 81-84.
187. VENTURINI L.; M. VENTURINI; Y. OMATA; C. Di LORENZO; G. De CAROLIS. 1997b. *Toxoplasma gondii*: La respuesta inmune por Ig G durante el periodo patente en un gato domestico infectado naturalmente. *Rev. Med. Vet.* 78(4): 258-260.
188. VOLLER, A.; D.E. BIDWELL; A. BARTLETT; D.G. FLECK; M. PERKINS; B. OLADEHIM. 1976. A microplate enzyme immuno assay for *Toxoplasma gondii* antibody. *J. Clin. Pathol.* 29: 150-153.

189. WALLS, K.W.; S.L. BULLOCK. D. K. ENGLISH. 1977. Use of the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and its microadaptation for the serodiagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 5: 273-277.
190. WAYNE, S.; A. MEEK; P. WILLEBERG. 1997. Epidemiología veterinaria. p 321-372. Ed. Acribia. Saragoza, España.
191. WASTLING, J.M.; S. NICOLL; D. BUXTON. 1993. Comparison of two gene amplification methods for detection of *Toxoplasma gondii* in experimental infected sheep. *J. Med. Microbiol.* 38: 360-365.
192. WILSON, M.; D.A. WARE; D.S. JURANEK. 1990. Serologic aspect of toxoplasmosis. *J. Vet. Med. Assoc.* 196: 227-281.
193. WOLF, D.; G. SCHARES; O. CARDENAS; W. HUANCA; A. CORDERO; A. BARWALD; F. CONRATHS; M. GAULY; H. ZAHNER; C. BAUER. 2005. Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llama (*Lama glama*) and vicuña (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. *Veterinary Parasitology* 130: 81-87.
194. WIENER LAB. 2000. TOXOTEST HAI. Prueba de hemoaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*. Argentina.
195. ZEGER, S. L.; K. Y. LIANG. 1986. Longitudinal data analysis for discrete and continuous outcomes. *Biometrics*, 42: 121 – 130.

ANEXO

ANEXO 1. MANIFESTACIONES CLINICAS EN ALPACAS HEMBRAS POR TRIMESTRES DURANTE UNA CAMPAÑA REPRODUCTIVA AL EXAMEN DE HEMOAGLUTINACION INDIRECTA (HAI)

B	ABORTOS				MORTALIDAD PERINATAL	NACIDOS VIVOS	VACIAS	TOTAL
	1ER TRIMESTRE	2DO TRIMESTRE	3ER TRIMESTRE	4TO TRIMESTRE				
NEGATIVOS		3	1	3	2	46	28	83
POSITIVOS		2	3	2	3	11	4	25
TOTAL		5	4	5	5	57	32	108

ANEXO 2. Titulación de anticuerpos anti *T. gondii* en alpacas hembras durante la campaña reproductiva 1999-2000 del CIDCS - Lachocc, U.N. de Huancavelica.

	Días aproximados de gestación				TOTAL	
	16	90	180	270	N°	%
TITULO	Nº	Nº	Nº	Nº		
1: 16	6	8	9	8	31	44.92
1: 32	-	1	4	5	10	14.49
1: 64	-	4	4	13	21	20.43
1: 128	-	1	4	1	6	8.69
1: 256	-	-	1	-	1	1.44
	6	14	22	27	69	

ANEXO 3. Titulación de anticuerpos anti *T. gondii* en alpacas hembras según situación reproductiva, campaña 1999-2000, del CIDCS - Lachocc U.N. de Huancavelica.

	ABORTO	MORT. PERINATAL	NACIDOS VIVOS	VACIAS	TOTAL	
TITULO	Nº	Nº	Nº	Nº	Nº	%
1: 16	5	3	17	22	47	40.51
1: 32	0	1	4	18	23	19.83
1: 64	7	2	6	24	39	33.62
1: 128	4	-	2	-	6	5.17
1: 256	-	-	1	-	1	0.87
TOTAL	16	06	30	64	116	100.0

Anexo 4. Frecuencia de *Toxoplasma gondii* según edad, en alpacas hembras del CIDCS – Lachocc, U.N. de Huancavelica. Campaña 1999.

EDAD Años	2	3	4	5	6	+7
Positivo %	20.0 (4/21)	10.0 (1/9)	50.0 (5/10)	26.2 (11/42)	6.3(1/16)	50.0 (5/10)
Negativo %	80.0 (17/21)	90.0(8/9)	50.0(5/10)	73.8 (31/42)	93.7(15/16)	50.0(5/10)

$X^2 = 11.021$; $P > 0.05$

Anexo 5. Seroprevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en el ganado ovino en varios países.

País	<u>Sero</u> <u>Prevalencia %</u>	<u>Tecnica</u> <u>Diagnostica</u>	
Alemania	80.0	IFI	Bocho y Kuhm, 1972
Checoslovaquia	73.0	SFT	Jirovec, 1968
Francia	72.0	SFT	Guillo y Desmont, 1961
	35.0	SFT	Mandoul <i>et al.</i> , 1965
	79.0	IFI	Calamet, 1982
Holanda	89.0	IFI	De Roover-Bonet, 1972
Italia	46.0	SFT	Zardi <i>et al.</i> , 1967
Reino Unido	90.0	SFT	Beverley y Watson, 1961
Suecia	55.0	IFI	Uggla <i>et al.</i> , 1983
	19.0	ELISA	Lunden <i>et al.</i> , 1992
Canadá	99.0	ELISA	Waltner-Toews <i>et al.</i> , 1991
Estados Unidos	4-74	IFI	Dubey, 1990
Bangladesh	17.6	AL	Samad <i>et al.</i> , 1993
India	6.6	HAI	Sharma y Gautan, 1972
	34.0	HAI	Srivastava <i>et al.</i> , 1984
	32.2	HAI	Bhoop y Msolla, 1986
Irán	24.5	AL	Hashemi y Fesharki, 1996
Israel	30 (1985-990))	IFI	Shkap <i>et al.</i> , 1992
Nigeria	11.7	AL	Amin y Silsmore, 1993
Australia	1-70	IFI	Munday 1970
	9.0	IFI	Plant <i>et al.</i> , 1982
Técnica diagnóstica: (AL) aglutinación del látex; (HAI) hemaglutinación indirecta, (IFI) inmunofluorescencia indirecta, (SFT) prueba de Sabin-Feldman.			

Anexo 6. Seroprevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en camélidos sudamericanos.

País	Sero prevalencia	Técnica Diagnóstica	Referencia	Especie
Perú	50.00	HAI	Leguía <i>et al.</i> , 1988	Alpaca
	24.00	IFI	Góngora, 1992	Alpaca
	44.50	HAI	Gómez <i>et al.</i> 2003	Alpaca
	21.00	HAI	Poma <i>et al.</i> 2003	Alpaca
	27.94	HAI	Gómez <i>et al.</i> 2003	Llama
	14.85	HAI	Pastor <i>et al.</i> 2003	Vicuña
	34.50	IFI	Suárez <i>et al.</i> 2004	Alpaca
	47.50	IFI	Marcas <i>et al.</i> 2004	Llama
	10.19	IFI	Saravia <i>et al.</i> 2004	Llama
	13.65	IFI	Chang <i>et al.</i> 2005	Llama
	35.70	IFI	Ramírez, 2005	Alpaca
Chile	24.40	HAI	Rojas <i>et al.</i> 1989	Alpaca
	26.10	HAI	Rojas <i>et al.</i> 1989	Llama
	27.30	HAI	Rojas <i>et al.</i> 1989	Vicuña
	16.30	HAI	Gorman <i>et al.</i> 1999	Alpaca
EE.UU.	33.50	HAI	Dubey <i>et al.</i> 1992	Llama
Alemania	57.10	Inmunoblot	Wolf <i>et al.</i> 2005	Alpaca
	75.00	Inmunoblot	Wolf <i>et al.</i> 2005	Llama
Técnica diagnóstica: (HAI) hemoaglutinación indirecta, (IFI) Inmuno Fluorescencia Indirecta.				

Anexo 7. Parámetros estimados del modelo de Ecuación de Estimación Generalizada – G.E.E. mediante el paquete estadístico de STATA

Los datos usados fueron de madres que preñaron y se eliminaron las observaciones mas allá del primer aborto. Se trabajo con los datos en forma longitudinal, ajustados con tiempo de muestreo como una nueva variable.

y = 0 Preñez
1 Aborto

x = 0 anticuerpo toxoplasma negativo
1 anticuerpo toxoplasma positivo

xtgee y x edad tipogest_b time, family(binomial 1) link(logit) corr(exchangeable)

Iteration 1: tolerance = .00072633

Iteration 2: tolerance = .00005642

Iteration 3: tolerance = 4.323e-06

Iteration 4: tolerance = 3.311e-07

GEE population-averaged model		Number of obs	=	290
Group variable:	id	Number of groups	=	76
Link:	logit	Obs per group: min	=	2
Family:	binomial	avg	=	3.8
Correlation:	exchangeable	max	=	4
		Wald chi2(4)	=	9.13
Scale parameter:	1	Prob > chi2	=	0.0579

y	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf.Interval]	
x	1.250214	.642642	1.95	0.052	-.0093416	2.509769
edad	.3392942	.2136928	1.59	0.112	-.0795359	.7581243
tipogest_b	-1.421214	.8297693	-1.71	0.087	-3.047532	.205104
time	.2400308	.2916869	0.82	0.411	-.331665	.8117265
_cons	-4.549814	1.225036	-3.71	0.000	-6.95084	-2.148788

Donde:

x = 1.250214

OR = $e^x = 3.31$

Figura 1. Ubicación Geográfica de la Región de Huancavelica en el Perú.

